

Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL-MG

Campus Avançado de Poços de Caldas

DIEGO QUERINO NICOLA

**PRÉ-TRATAMENTO ÁCIDO DA BIOMASSA PALHA MAIS
BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR**

POÇOS DE CALDAS/MG
2017

DIEGO QUERINO NICOLA

PRÉ-TRATAMENTO ÁCIDO DA BIOMASSA PALHA MAIS BAGAÇO DE
CANA-DE-AÇÚCAR

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Alfenas como parte dos requisitos necessários a obtenção do grau de Mestre em Engenharia Química no Programa de Pós- Graduação em Engenharia Química. Área de Concentração: Engenharia Química. Orientadora: Profa. Dra. Melina Savioli Lopes

POÇOS DE CALDAS/ MG
2017

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca campus Poços de Caldas

N634p Nicola, Diego Querino.

Pré-tratamento ácido da biomassa palha mais bagaço de cana-de-açúcar / Diego Querino Nicola. -- Poços de Caldas/MG, 2017.
51 f. --

Orientadora: Melina Savioli Lopes.

Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Alfenas, campus Poços de Caldas, 2017.
Bibliografia.

1. Resíduos como combustível. 2. Bagaço de cana. 3. Lignina. I. Lopes, Melina Savioli. II. Título.

CDD – 660

Ficha Catalográfica elaborada por Thaís Aparecida de Lima
Bibliotecária-Documentalista CRB6/3032

DIEGO QUERINO NICOLA

PRÉ-TRATAMENTO ÁCIDO COM ALTAS CARGAS DE SÓLIDO DA
BIOMASSA PALHA MAIS BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR

A Banca Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Química pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Engenharia Química.

Aprovado em: 31/10/17

Prof. Dr.ª Melina Savioli Lopes

Assinatura: Melina Savioli Lopes

Instituição: Universidade Federal de Alfenas- MG – UNIFAL – MG

Prof. Dr.º Leandro Lodi

Assinatura: Leandro Lodi

Instituição: Universidade Federal de Alfenas- MG – UNIFAL – MG

Prof. Dr.ª Milena Savioli Lopes

Assinatura: Milena Savioli Lopes

Instituição: Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP

RESUMO

A utilização de resíduos agroindustriais como fontes lignocelulósicas para a obtenção de diversos insumos químicos é uma alternativa para contribuir para a valorização destes subprodutos. Neste contexto, o etanol produzido a partir de materiais lignocelulósicos, torna-se uma opção interessante para aumentar a produção deste combustível sem aumentar a área plantada das colheitas utilizadas para sua produção, já que a demanda de etanol vem aumentando cada vez mais nos últimos anos, com o objetivo de substituir o petróleo e seus derivados, contribuindo significativamente para a redução dos impactos negativos ao meio ambiente, tais como o aquecimento global provocado pela queima dos combustíveis fósseis. Para que a produção de etanol celulósico seja economicamente viável, é necessário que estas fontes lignocelulósicas sejam fracionadas de forma a disponibilizar a maior quantidade de carboidratos possível para o processo de fermentação alcoólica. Neste trabalho, propôs-se avaliar o pré-tratamento químico da mistura bagaço mais palha de cana-de-açúcar, nas formas —in natura e pré-tratada, de forma a verificar o efeito do pré-tratamento com ácido sulfúrico diluído nas concentrações de 1%, 1,5% e 2% (v/v), em temperaturas 80, 100 e 120 °C e tempos de reação 60, 90, 120 minutos. O pré-tratamento com 1% de ácido sulfúrico encontrou teor de celulose, hemiceloses e lignina de 42,15; 6,41 e 20,16% respectivamente para cada 100 g de mistura. Para as condições de 1,5%, encontrou-se 39,59 % para celulose, 8,27% para hemicelose e 20,16% para lignina e para a condição de 2,0 % encontrou-se 33,82 % para celulose, 8,72% para hemicelose e 16,56% para lignina. Assim, foi possível observar a viabilidade da utilização da mistura palha mais bagaço de cana-de-açúcar no pré-tratamento, para uma possível produção de etanol de segunda geração, o que possibilitaria o incremento da produção de biocombustíveis a partir de fontes renováveis e sustentáveis.

Palavras-chave: Pré-tratamento. Palha de cana de açúcar. Bagaço de cana-de-açúcar.

ABSTRACT

The use of agroindustrial residues as lignocellulosic sources to obtain various chemical inputs is an alternative to contribute to the valorization of these by-products. In this context, ethanol produced from lignocellulosic materials becomes an interesting option to increase the production of this fuel without increasing the planted area of the crops used for its production, since the demand for ethanol has been increasing in recent years, with the aim of replacing oil and its derivatives, contributing significantly to the reduction of negative impacts to the environment, such as global warming caused by the burning of fossil fuels. In order for the production of cellulosic ethanol to be economically viable, it is necessary that these lignocellulosic sources be fractionated in order to provide the largest amount of carbohydrate possible for the alcoholic fermentation process. In this work, it was proposed to evaluate the chemical pre-treatment of the bagasse mixture plus sugarcane straw, in the natural and pretreated forms, in order to verify the effect of pre-treatment with dilute sulfuric acid at concentrations 1%, 1.5% and 2% (v / v) at temperatures of 80, 100 and 120 ° C and reaction times 60, 90, 120 minutes. Pretreatment with 1% of sulfuric acid found cellulose content, hemicellulose and lignin of 42.15; 6.41 and 20.16% respectively for each 100 g of mixture. For the conditions of 1.5%, it was found 39.59% for cellulose, 8.27% for hemicellulose and 20.16% for lignin and for the condition of 2.0% was found 33.82% for cellulose, 8.72% for hemicellulose and 16.56% for lignin. Thus, it was possible to observe the feasibility of using the straw blend plus sugarcane bagasse in the pretreatment, for a possible second generation ethanol production, which would allow the increase of the production of biofuels from renewable sources and sustainable development.

Key words: Pretreatment. Sugar cane straw. Sugarcane bagasse

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Fluxograma do processo de obtenção de etanol a partir de materiais	16
Figura 2 - Estrutura da cana-de-açúcar	17
Figura 3 - Estrutura do material lignocelulosico	20
Figura 4 - Estrutura da celulose	22
Figura 5 - Efeito do pré-tratamento no material lignocelulósico.....	25
Figura 6 - Esquema do pré-tratamento	32
Figura 7 - Fator combinado de severidade x tempo	41
Figura 8 - Fator combinado de severidade x temperatura	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resultado da caracterização das ramas de batata-doce, Sorgo, bagaço de cana-de-açúcar e palha de milho.....	21
Tabela 2 - Diferenças entre celulose e hemiceluloses.....	23
Tabela 3 - Reagentes utilizados nos experimentos.....	30
Tabela 4 - Equipamentos utilizados nos experimentos.....	31
Tabela 5 - Composição da mistura bagaço mais palha de cana-de-açúcar in natura.....	38
Tabela 6 -Fator de severidade e fator de severidade combinado para concentração de ácido sulfúrico de 1,0%.....	39
Tabela 7 - Fator de severidade e fator de severidade combinado para concentração de ácido sulfúrico de 1,5%.....	39
Tabela 8 - Fator de severidade e fator de severidade combinado para concentração de ácido sulfúrico de 2,0%.....	39
Tabela 9 - Concentrações de celulose, hemiceluloses, lignina, cinzas I, rendimento e balanço de massa após pré-tratamento com ácido sulfúrico a 1%.....	43
Tabela 10 - Concentrações de celulose, hemiceluloses, lignina, cinzas I, rendimento e balanço de massa após pré-tratamento com ácido sulfúrico a 1,5 %.....	43
Tabela 11 - Concentrações de celulose, hemiceluloses, lignina, cinzas I, rendimento e balanço de massa após pré-tratamento com ácido sulfúrico a 2,0 %.....	44

Sumário

1	INTRODUÇÃO	10
2	OBJETIVO GERAL	13
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
3.1	BIOCOMBUSTÍVEL.....	14
3.2	ETANOL DE PRIMEIRA GERAÇÃO	14
3.3	ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO	15
3.4	CANA-DE-AÇÚCAR	17
3.5	BAGAÇO DA CANA-DE-AÇÚCAR.	18
3.6	PALHA DA CANA-DE-AÇÚCAR.....	18
3.7	MATERIAL LIGNOCELULÓSICO.	19
3.8	CELULOSE.....	21
3.9	HEMICELULOSES.	22
3.10	LIGNINA	23
3.11	OUTRAS SUBSTÂNCIAS PRESENTES NA BIOMASSA	23
3.12	PRÉ-TRATAMENTO	24
3.12.1	Pré-Tratamentos Físicos.	26
3.12.3	Pré-Tratamentos Físico-Químicos.....	26
3.12.4	Pré-Tratamento Biológico	26
3.12.5	Pre-Tratamento Com Solventes Orgânicos	27
3.12.6	Pré-Tratamentos Químicos Com Solução Alcalina.....	27
3.12.7	Pré-Tratamento Químico Com Ácido	28
3.13	SEVERIDADE	29
4	MATERIAS E MÉTODOS	30
4.1.1	DETERMINAÇÃO DOS CARBOIDRATOS ESTRUTURAIS E LIGNINA.....	33

4.1.2	LIGNINA SOLÚVEL	33
4.1.3	LIGNINA INSOLÚVEL.....	34
4.1.4	DETERMINAÇÃO DE CINZAS	35
4.1.5	DETERMINAÇÃO DOS EXTRATIVOS.....	35
4.1.6	QUANTIFICAÇÃO DE CARBOIDRATOS	36
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
6	CONCLUSÃO.....	46
	REFERÊNCIAS	47

1 INTRODUÇÃO

A busca por novos combustíveis vem sendo amplamente estudada nos dias atuais. A possibilidade da escassez de petróleo e o aumento da degradação ambiental são os principais motivos que levaram os governos a investirem e buscarem estratégias para o aumento da produção e do consumo de energia e combustíveis que sejam renováveis e sustentáveis (CORTEZ *et al*, 2010; KHESHGI *et al.*, 2000). Algumas dessas estratégias são investir em energia eólica, solar, geotérmica, maremotriz e biomassa (DE CARLI, 2011).

Entre esses vários tipos de energia alternativa supracitados destaca-se a biomassa, usada tanto como combustível em caldeiras para produção de energia elétrica ou como uma fonte de material lignocelulósico usado para produção de bioetanol, um deles o etanol de segunda geração (2G).

Segundo estudo realizado pelo Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social (BNDES, 2008) existem vantagens no uso dos biocombustíveis, uma delas, que seu uso permite reduzir a emissão de carbono para a atmosfera, uma vez que liberam 50% menos material particulado e 98%, menos enxofre. responsáveis pelo aquecimento global.

Alguns países como o Estados Unidos, Alemanha e Argentina já fazem uso de biocombustíveis (RADENKOVIC, 2016), um desses o etanol produzido pela fermentação de açúcares, ser extraídos do milho, cana-de-açúcar, beterraba, dentre outras fontes (GOYAL; GOSH; EVELEIGH, 1991; VAM WYK, 2001).

Três tipos de biomassa podem ser utilizados para produção de energia e biocombustíveis são elas, vegetais não lenhosos (sacarídeos, celulósico, amiláceos, aquáticos oleaginosas), vegetais lenhosos (madeiras) e resíduos orgânicos (agropecuários, urbanos, agroindustriais). A produção de energia e biocombustíveis utilizando vegetais não lenhosos já possui uma produção consolidada (IEEUSP, 2016) No Brasil, para a produção de etanol de primeira geração (1G), a principal biomassa utilizada é a cana-de-açúcar. Outros países fazem uso da beterraba e do sorgo doce. O processo para a produção do 1G pode ser dividida em cinco etapas, processo de extração do caldo, tratamento do caldo, fermentação, centrifugação e destilação. Aumentar a produção sem reformar a planta existente é um dos desafios. Uma alternativa é a produção de etanol de segunda geração (2G), o processo ganha algumas etapas importantes no seu início como o pré-tratamento e a hidrólise enzimática, mas ainda, usa as etapas finais da produção do 1G.

A indústria sucroalcooleira brasileira tem manifestado interesse em tecnologias ainda mais sustentáveis que possam ser agregadas a sua cadeia produtiva, podendo assim aumentar o seu rendimento. Uma alternativa é utilizar parte do bagaço que seria destinado para ser queimado na caldeira e parte da palha de cana-de-açúcar que é deixada no campo como proteção contra corrosão do solo, para aumentar a sua produção de bioetanol (CANILHA *et al.*, 2010).

Devido a sua grande disponibilidade e baixo custo, os materiais lignocelulósicos (palha e bagaço de cana-de-açúcar) vem sendo cada vez mais estudados como fontes de açúcares fermentáveis para a produção de bioetanol de segunda geração. (MARTÍN; KLINKE; THOMSEN, 2007).

O processo de produção de bioetanol a partir do bagaço e da palha de cana-de-açúcar demanda a transformação da celulose em monômeros de glicose e subsequente conversão dos mesmos, por microrganismos, em bioetanol. Entretanto, a celulose nativa encontra-se muito protegida pela matriz lignina carboidrato, de modo que a celulose torna-se muito recalcitrante à ação hidrolítica, resultando em processos lentos de conversão. Portanto, torna-se necessário realizar um pré-tratamento do bagaço e da palha de cana-de-açúcar, de modo a aumentar a exposição das fibras de celulose, tornando-a mais acessível aos agentes hidrolíticos enzimáticos ou ácidos (LEE *et al.*, 1994; LYND *et al.*; 1996; MOSIER *et al.*, 2003).

A tecnologia para conversão da biomassa lignocelulósica em bioetanol de segunda geração já existe, mas esbarra em dificuldade técnicas e econômicas. O processo pode ser separado em quatro etapas: a primeira delas é o pré-tratamento que é responsável pelo rompimento da estrutura recalcitrante da biomassa lignocelulósica, a segunda etapa tem a função de transformar polissacarídeos em açúcares fermentáveis conhecida como hidrólise enzimática; a terceira etapa é a fermentação onde converte os açúcares obtidos em etanol de segunda geração; a quarta e última etapa é a destilação (SANTOS *et al.*, 2012).

Se a produção de etanol de segunda geração (2G) for iniciada com a hidrólise enzimática seu processo de conversão é muito lento devido à natureza recalcitrante da biomassa. Por esse motivo, o pré-tratamento é provavelmente a etapa mais importante do processo de produção de etanol 2G, uma vez que tem forte impacto em todas as outras etapas no processo. Ele aumenta a área superficial e diminui o grau de polimerização e cristalinidade da celulose, altera ou remove a lignina as hemiceluloses, aumenta a digestibilidade do complexo enzimático, podendo ocasionar um elevado rendimento em açúcares (SANTOS *et al.*, 2012).

Para determinar qual o melhor pré-tratamento a ser usado (físicos, químicos, biológicos e físico-químico) deve se levar em conta fatores como a máxima acessibilidade a celulose, uma baixa formação de inibidores, baixo consumo de energia e de insumos (CHATUVERDI e VERMA, 2013). Entre os pré-tratamentos, o químico tem sido amplamente estudado, em razão da sua viabilidade técnica e econômica. São separados em: ácidos, alcalinos e oxidativos. A diferença entre eles se dá pela ação dos reagentes, e pela maneira que modifica a estrutura da parede celular.

O pré-tratamento alcalino proporciona elevada deslignificação da biomassa, uma remoção parcial da hemicelulose, pela ação dos hidróxidos de sódio e cálcio. No caso dos pré-tratamentos oxidativos observasse a remoção de dois componentes celulose e lignina, por oxidação da estrutura. Os pré-tratamentos ácidos propiciam a hidrólise das hemiceluloses e a formação de uma fração sólida rica em celulose e lignina, nos quais o ácido sulfúrico e ácido fosfórico são os mais utilizados (ASSUMPCÃO, 2015).

Dessa forma, esse trabalho tem por finalidade avaliar o rendimento de açúcares numa mistura de palha e bagaço de cana-de-açúcar na proporção de 1:1 de cada biomassa a partir do pré-tratamento utilizando ácido sulfúrico diluído, nas concentrações de 1,0 (v/v), 1,5 (v/v) e 2,0 (v/v), combinados em 60, 90 e 120 min e temperaturas de 80, 100, e 120 °C, totalizando 27 diferentes combinações.

1. OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito do pré-tratamento ácido na mistura de bagaço e palha da cana-de-açúcar combinadas na proporção de 1:1, usando ácido sulfúrico diluído em três diferentes concentrações 1,0; 1,5 e 2,0 (v/v), combinado com três temperaturas 80, 100 e 120 °C e três tempos, sendo eles: 60, 90 e 120 min, obtendo 27 diferentes rotas de pré-tratamento. Deste modo, espera-se contribuir para o avanço dos estudos no processo de pré-tratamento de biomassas, visando a produção do etanol de segunda geração e tornando este, um processo mais rendável e prático.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Avaliar o pré-tratamento químico, do bagaço e palha da cana-de-açúcar combinados, usando ácido sulfúrico diluído;
- b) Caracterização da composição química do bagaço e palha de cana-de-açúcar pré-tratado e compará-lo com o bagaço e palha *in natura* através da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE);
- c) Avaliar o grau de remoção da lignina e hemiceluloses e, a obtenção da celulose com o pré-tratamento utilizando H_2SO_4 diluído, e comparar com os resultados de pré-tratamento encontrados na literatura;

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Nesse capítulo será apresentado uma definição breve sobre biocombustível, etanol de primeira geração e de segunda. também será apresentado a cana-de-açúcar um nos principais produtos para produção do etanol, e seu sub produtos principais o bagaço e a palha. Além de uma breve definição sobre material lignocelulósicos e seus principais componentes e os principais pré-tratamento para obtenção de um rompimento celular.

3.1 BIOCOMBUSTÍVEL

O termo biocombustível refere-se aos combustíveis líquidos ou gasosos do setor de transporte, os quais são produzidos da biomassa, os principais combustíveis produzidos a partir destes recursos naturais pode-se destacar o etanol (líquido), o hidrogênio e o metano (gasosos) (SANTOS *et al.*,2013)

Os biocombustíveis podem ser facilmente obtidos a partir de fontes de biomassas de grande disponibilidade e de baixo custo, seu uso permite reduzir a emissão de carbono para a atmosfera. A produção de biocombustível é potencialmente favorecida, além disso, elas são biodegradáveis e contribuem para a sustentabilidade (HAHN-HÄGERDAL *et al.*, 2006; PUPPAN, 2002).

Dentre essas fontes de energia, a biomassa lignocelulósica tem se apresentado como uma alternativa viável, além de ser sustentável é uma opção racional para a substituição aos combustíveis fósseis, em especial pelo seu potencial de produzir energia elétrica, biogás, bio-óleo, produtos químicos, combustíveis sólidos e líquidos (SANTOS *et al.*, 2013). Fazendo com que as fontes de energia renováveis substituam gradativamente as energias geradas a partir de fontes fósseis no âmbito mundial. No caso do Brasil, espera-se que as energias eólica, solar e de biomassa lignocelulósica estejam cada vez mais presentes na matriz elétrica nacional (GREENPEACE, 2010).

3.2 ETANOL DE PRIMEIRA GERAÇÃO

O etanol de primeira geração é obtido via fermentativa, um processo que envolve cinco etapas: processo de extração do caldo, tratamento do caldo, fermentação, centrifugação e destilação. A via fermentativa é o processo mais importante e economicamente viável para

a obtenção do etanol de primeira geração (álcool etílico), levando em consideração a grande área produtora de cana-de-açúcar existente em todo o país (SANTOS *et al.*, 2013).

Entretanto para que a produção de etanol seja economicamente viável é preciso considerar seu volume de produção, o rendimento industrial e o custo de fabricação (LIMA *et al.*, 2001)

O etanol é um composto orgânico, incolor, volátil, inflamável, apresenta fórmula molecular C_2H_6O , totalmente solúvel em água, por ser um composto polar (BIOETANOL, 2008; POLOBIO, 2009).

O etanol no Brasil é usado como uma alternativa ao uso da gasolina, ou pelo menos, como um aditivo a mesma, segundo a Agência Nacional de Petróleo e Biocombustíveis que regulamenta as especificações dos diferentes tipos de etanol usados no Brasil pelo teor de água presente. O etanol hidratado combustível com teor máximo de 4,9 % (v/v) de água é utilizado como combustível no dia-a-dia em veículos e o etanol anidro combustível com 0,4 % (v/v) de água, misturado à gasolina visando a melhoria no desempenho do motor.

O etanol produzido a partir da cana-de-açúcar do Brasil apresenta uma vantagem comparada aos seus concorrentes, por apresentar um balanço energético mais favorável, onde é levado em consideração a energia produzida em relação a energia consumida, valores superiores a um significam que a energia obtida é maior que a energia gasta, isto é, o balanço energético é positivo e viável economicamente (OLIVEIRA *et al.*, 2014)

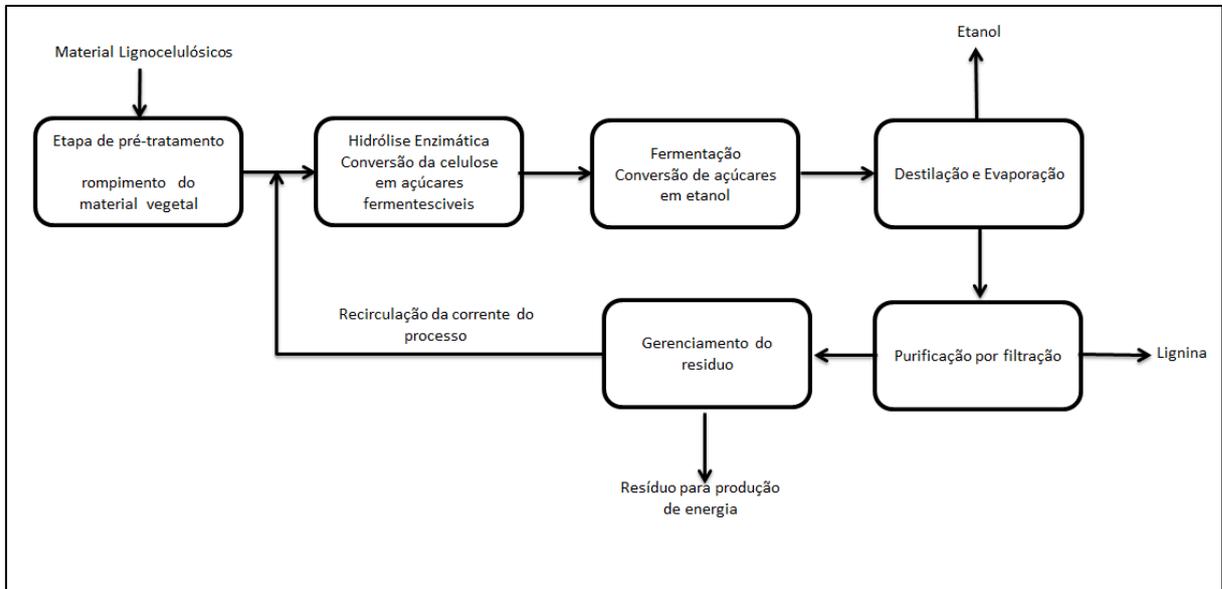
3.3 ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO

A necessidade de reduzir o uso de combustíveis fósseis por uma fonte renovável de energia faz com que a produção de etanol em larga escala seja baseada principalmente em materiais lignocelulósicos (SILVA *et al.*, 2009). Os materiais lignocelulósicos podem ser considerados como matéria-prima para produção de etanol de segunda geração a médio e a longo prazo, devido a seu baixo custo e grande disponibilidade (LIMAYEM; RICKE, 2012).

Há três etapas principais no processo de conversão dos materiais lignocelulósicos em etanol de segunda geração são elas: pré-tratamento e sacarificação enzimática, fermentação e destilação. A primeira etapa tem por finalidade fazer o rompimento vegetal e disponibilizar os açúcares fermentáveis, a segunda etapa é realizada por microrganismos que tem por finalidade fazer a conversão dos açúcares em etanol, a terceira etapa é a recuperação do etanol

fermentado a Figura 1 representa um fluxograma simplificado da produção do etanol de segunda geração (SILVA et al.,2009)

Figura 1- Fluxograma do processo de obtenção de etanol a partir de materiais



Fonte: Adaptado de HAHN-HÄGERDAL et al., 2006

Para promover um pré-tratamento eficiente, capaz de disponibilizar a maior quantidade de açúcar possível para fermentação muitos pesquisadores estão concentrado esforços para melhor as etapas de: pré-tatramento, fermentação (desenvolvendo microrganismos geneticamente modificados que possam fermentar tanto pentoses quanto hexoses) e plantio (na produção de plantas geneticamente modificadas com maior quantidade de carboidratos ou modificando estruturalmente para facilitar a etapa de pré-tratamento (DIEN; COTTA; JEFFRIES, 2003; HAHNHÄGERDAL et al., 2006; JEFFRIES, 2006;)

Segundo Bonomi 2017 em curto prazo é mais interessante economicamente para as empresas do setor sucroenergético montar uma nova usina voltada á produção de etanol de primeira geração do que construir uma usina de etanol de segunda geração integrada a uma de primeira. Porem em médio prazo se espera que o custo de produção do etanol a partir de material lignocelulósicos empate com o de primeira geração isso em 2025 e a partir de 20130 o etanol de segunda geração seja mais barato do que o de primeira.

Atualmente no Brasil existem duas usinas voltadas á produção de etanol de segunda geração uma localizada em São Miguel dos Campos, em Alagoas do grupo Granbio,

inaugurada em 2014, a outra situada em Piracicaba, que entrou em operação no último semestre de 2014, no interior de São Paulo que pertence a grupo Raízen.

3.4 CANA-DE-AÇÚCAR

Sendo um dos principais produtos agrícolas do Brasil, a cana-de-açúcar possui um grande potencial para geração de energia renovável (OLIVEIRA, 2007). A cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) pode ser dividida em duas partes: subterrâneas (raízes e rizomos) e aéreas (Figura 2) (SCHLITTLER, 2006).

Figura 2 - Estrutura da cana-de-açúcar



Fonte: Adaptada de SCHLITTLER, 2006

A parte aérea é composta de colmos, que tem como característica nós bem marcados e entre nós distintos. Apresentam um alto teor de fibras composto, principalmente por água e açúcares que se concentram nos colmos, a sacarose o carboidrato predominante. A composição química da cana-de-açúcar pode variar quanto a proporção dos elementos, porém, quantitativa e qualitativamente, exibe certo padrão em todas as variedades (SCHLITTLER, 2006).

A estrutura da cana-de-açúcar possui vários tipos de tecidos, como o córtex, parenquimatoso e hastes fibrovasculares. O córtex é composta de fibras muito lignificadas, sendo caracterizado pela espessura da parede celular, seu comprimento e rigidez de suas fibras. Este tecido confere proteção contra os efeitos mecânicos externos, servindo de suporte

para a planta. O tecido parenquimatoso constitui a parte interior do talo (medula) de caráter não fibroso, o qual possui como principal função o armazenamento do suco adocicado produzido pela planta. Imerso dentro deste tecido encontram-se as hastes fibrovasculares, compostas de fibras curtas e vasos que atuam na sustentação e condução dos alimentos e outros produtos ao longo da planta (PATURAU, 1989).

3.5 BAGAÇO DA CANA-DE-AÇÚCAR.

Nos últimos anos, no cenário brasileiro e mundial, os materiais lignocelulósicos cada vez mais estão sendo focos de estudo para a produção de etanol de segunda geração, entre eles o bagaço de cana-de-açúcar. O bagaço é resultante do processo de extração do caldo da cana-de-açúcar. É formada fisicamente por quatro frações: material fibroso (45%), água (51-49%), sólidos não solúveis (2-3%), sólidos solúveis e extrativos (2-3%) (CGEE, 2009).

A composição química do bagaço é constituída por lignina (20-30%), celulose (38-50%) e hemicelulose (25-27%) (PANDEY *et al.*, 2000; RABELO, 2007; ROCHA *et al.*, 2012).

Também existem outros componentes que compõem o bagaço, substâncias químicas que podem ser extraídas utilizando solventes polares e apolares. Essas substâncias são terpenos/terpenóides, gorduras/ceras, vários tipos de compostos fenólicos, assim como proteínas e cinzas. Esses componentes variam em cada espécie de material lignocelulósico e representa aproximadamente 5-20% de todo o material (FENGEL; WEGENER, 1989).

O potencial de produção de resíduos da cana-de-açúcar representa, em média, 14% da massa total da cana-de-açúcar (SEABRA, 2008). Para cada tonelada de cana moída na fabricação de açúcar e etanol, tem-se uma geração média de 250 kg de bagaço e 200 kg de palha (ÚNICA, 2012).

Atualmente, o bagaço tem por finalidade a geração de energia elétrica para a própria usina por meio de queima em caldeira (ÚNICA, 2016).

3.6 PALHA DA CANA-DE-AÇÚCAR

A palha deixada na superfície do solo após a colheita mecanizada é composta basicamente de folhas verdes, folhas secas, bainha e ponteiros (GÓMEZ *et al.*, 2010). A palha da cana-de-açúcar tem um papel importante na melhoria da fertilidade do solo, por

meio do retorno dos nutrientes via processos de mineralização, controle de processos erosivos e maior retenção de água, além de propiciar aumento na microbiota (BERTONCINI, 2008).

A palha da cana-de-açúcar que é considerada toda a parte aérea da planta (menos o colmos) apresenta os mesmos componentes químicos que o bagaço. Entretanto, as propriedades físico-mecânicas e geométricas são diferentes.

A palha de cana-de-açúcar apresenta um teor de cinzas entre duas e quatro vezes maior do que o bagaço de cana, variando em função do local de coleta do material, condições climática, estágio de desenvolvimento vegetativo e cultivo (FERNANDO et. al. 2012)

Com a lei que proíbe as queimadas de cana-de-açúcar em todo território nacional, regulada pelo Decreto Federal n. 2.661/98, que estabelece o fim progressivo da prática de queima, toda a palha gerada durante a colheita no Brasil estarão disponíveis para recuperação integral ou parcial, e dois procedimentos poderão ser executados: (i) deixar a palha no campo e (ii) recuperar como matéria-prima para a produção de combustíveis ou produtos químicos (GÓMEZ *et al.*, 2010). A primeira opção, de manter a palha no campo, é interessante agronomicamente ela ajuda a melhorar as propriedades físicas, química e retenção de umidade (SANTOS *et al.*, 2012). Porém, a segunda opção se torna atrativa uma vez que o excesso da palha no solo pode causar alguns problemas como retardamento na brotação, imobilização de nutrientes minerais, principalmente o nitrogênio, dificuldades de operação das máquinas e implementos agrícolas. (GÓMEZ *et al.*, 2010)

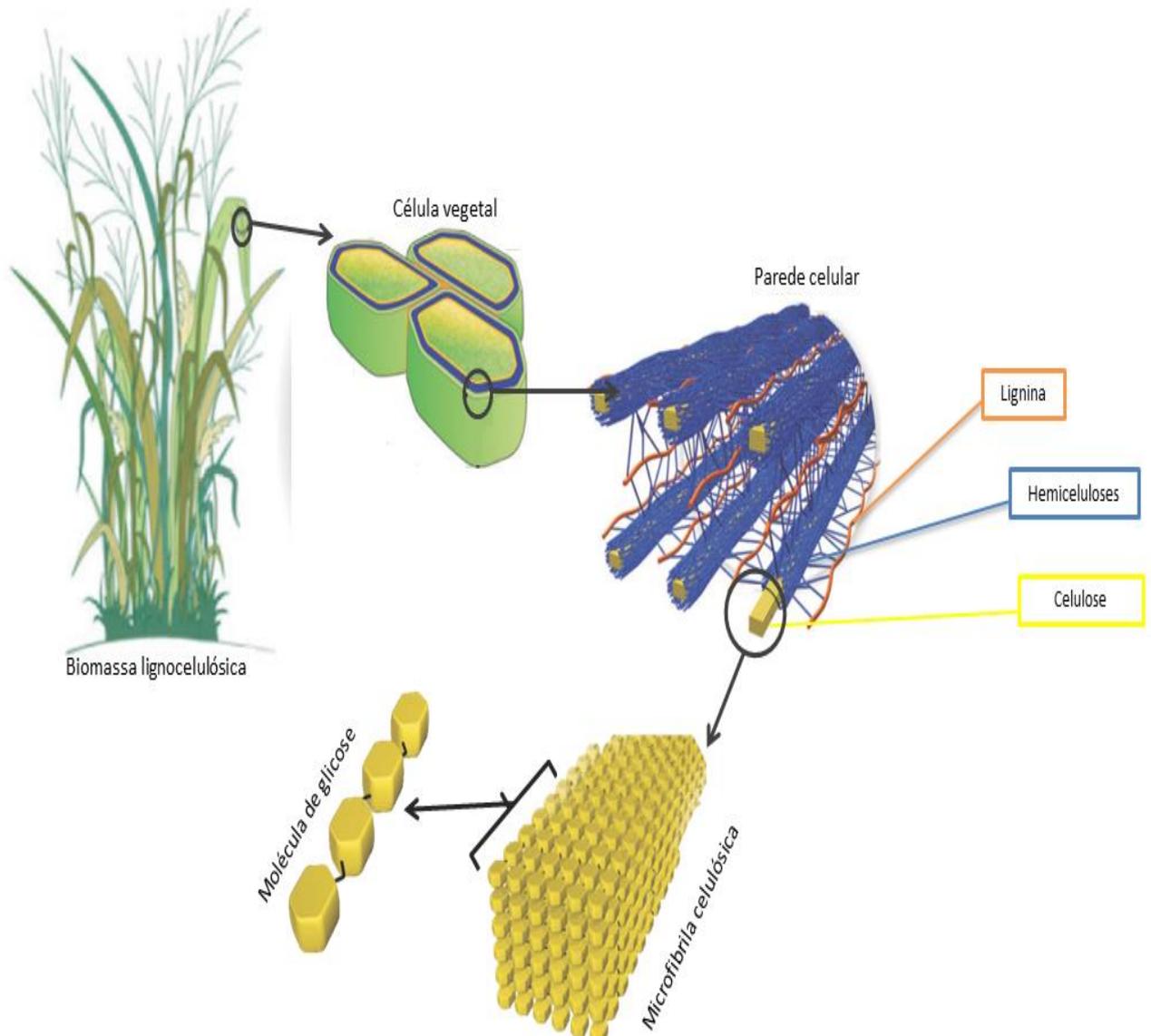
3.7. MATERIAL LIGNOCELULÓSICO.

Os materiais lignocelulosicos são compostos principalmente de três polímeros: celulose, hemicelulose e lignina, estruturas estas responsáveis por criar uma barreira natural contra a ação de microrganismos. (OLSSON et al., 1996).

A grande dificuldade de conversão do material lignocelulósico em biocombustíveis ou em qualquer outro produto, vem do fato de que este material apresenta uma complexa estrutura morfológica. O material lignocelulósico é composto principalmente de celulose, hemiceluloses e lignina. A Figura 3 mostra uma representação do material lignocelulósico, esta estrutura é responsável por criar uma barreira natural contra a ação de microrganismos (OLSSON *et al.*, 1996).

As cadeias de celulose e hemiceluloses ficam fixadas pela lignina, que se mantém juntas as cadeias de celulose se mantêm juntas através de ligações de hidrogênio que promovem a rigidez da planta. As hemiceluloses, proporcionam a ligações entre a celulose e a lignina formando assim a rede fibrosa (RABELO *et al.*, 2010).

Figura 3 - Estrutura do material lignocelulósico



Fonte: Adaptada pelo autor RABELO *et al.*, 2010

A Tabela 1 apresenta a composição mássica de celulose, lignina e hemiceluloses para os diferentes matérias lignocelulósicos.

Tabela 1 - Resultado da caracterização das ramas de batata-doce, Sorgo, bagaço de cana-de-açúcar e palha de milho.

	Rama Batata- doce	Sorgo (Akanksha et al, 2014)	Bagaço de cana-de-açúcar (Lopes, 2016)	Palha de milho (Cheng Timilsina 2010)
Celulose	46,48%	39,57%	40,45%	35 a 40%
Hemicelulose	19,28%	13,63%	30,61%	17 a 35%
Lignina	19,16%	20,63	19,09%	7 a 18%
Cinzas	6,88%	26,30	2,48%	
Extrativos/outros	8,22%		8,96%	

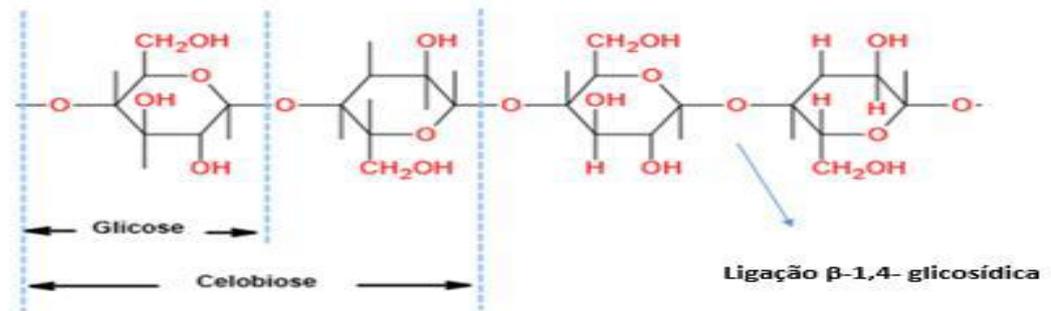
Fonte: Adaptada pelo autor DOMINICES, 2017

3.8 CELULOSE

A celulose é um polímero linear e cristalino, possui uma estrutura rígida, então é necessário um pré-tratamento para romper essa estrutura e modificar o arranjo (OLSSON *et al.*, 1996). Quando colocadas em contato com água e certos solventes orgânicos, sofre aumento de volume, esse aumento pode ser intercristalino ou intracristalino. No primeiro caso a água ou o solvente orgânico penetra nas regiões amorfas da microfibrilas da celulose e nos espaços entre elas. No segundo caso, a água ou solvente orgânico penetra nas regiões cristalinas das microfibrilas, neste caso é usado soluções concentradas de ácidos e bases fortes e de soluções de alguns sais (RABELO, 2010).

Uma fibra de celulose pode conter cerca de 5.000 a 10.000 unidades de glicose, a unidade de repetição do polímero de celulose é composta de duas unidades de glicose anidra, chamada de unidades de celobiose conforme mostrada na Figura 4 (MOHAN *et al.*, 2006)

Figura 4 - Estrutura da celulose



Fonte : Adaptada pelo autor ASSUMPÇÃO *et al.*, 2015

Apesar de apresentar uma estrutura química simples, existe uma complexa gama de formas físicas da celulose devido principalmente à diversidade do material e aos processamentos tecnológicos subsequentes a que a biomassa celulósica é submetida. A descrição destes substratos inclui propriedades como o tamanho, a forma, a porosidade, o grau de polimerização, a área superficial, a associação com compostos não celulósicos, a conformação molecular e cristalinidade, sendo todos eles relevantes para o processo de hidrólise (BEGUIN ; AUBERT, 1994).

3.9 HEMICELULOSES.

Presentes em todas as camadas da parede celular, as hemiceluloses concentram-se principalmente nas camadas primária e secundária, onde estão associadas à celulose e lignina. Aproximadamente 30% dos polissacarídeos que constituem a parede celular dos vegetais são de hemiceluloses (DA SILVA *et al.*, 1997; HON e SHIRAISHI, 1991).

As hemiceluloses diferem da celulose por sua constituição em diferentes unidades de açúcares, formando cadeias moleculares curtas e bastante ramificadas. Algumas diferenças são apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2 - Diferenças entre celulose e hemiceluloses.

Celulose	Hemiceluloses
Unidades de glicose ligadas entre si	Unidades variadas de açúcares
Grau de polimerização elevado	Grau de polimerização baixa
Forma arranjo fibroso	Não forma arranjo fibroso
Forma regiões amorfas e cristalinas	Forma somente regiões amorfas
É atacada lentamente por ácido mineral diluído a quente	É atacada rapidamente por ácido mineral diluído a quente
É insolúvel em álcali	É solúvel em álcali

Fonte: Adaptada pelo autor BIANCHI, 1995.

Possuindo uma estrutura não cristalina as hemiceluloses são facilmente hidrolisadas ao contrário da celulose. Xilose e arabinose são dois dos principais constituintes das hemiceluloses. A elasticidade e flexibilidade características podem estar relacionadas às cadeias laterais da hemicelulose que interagem facilmente com a celulose, estando depositada de forma intercalada nas microfibrilas de celulose em um estágio anterior a lignificação (RAMOS, 2003).

3.10. LIGNINA

A lignina, depois da celulose, é a macromolécula orgânica mais importante e abundante dentre os materiais lignocelulósicos. A lignina aumenta a resistência mecânica das plantas, cuja função principal é de dar sustentação a toda estrutura. Ela é formada de uma complexa estrutura de polímeros amorfos e possui característica hidrofóbica, auxilia no transporte de água e no sequestro de carbono. A lignina é altamente ramificada e frequentemente esta ligada as fibras da celulose formando um complexo liginocelulósico; este complexo e a lignina sozinha são frequentemente muito resistentes a converção por sistemas biológicos e agentes químicos. Dependendo da origem da biomassa a lignina varia entre 10 a 40% (MOHAGHEGHI *et al.*, 2002)

3.11. OUTRAS SUBSTÂNCIAS PRESENTES NA BIOMASSA

Os extrativos são compostos localizados no centro do metabolismo do vegetal, proporcionam reserva energética e proteção ao vegetal contra o ataque de microrganismos e

insetos, mas tem um efeito inibidor nos processos de conversão de biomassa (FENGEL; WEGENER, 1989).

Existem outras substâncias nos materiais lignocelulósicos como uma extensa variedade de extrativos, os quais podem ser extraídos por solventes polares ou apolares. Ácidos graxos, ceras, alcalóides, proteínas, fenólicos, açúcares simples, pectinas, mucilagens, goma, resinas, terpenos, amido, glicosídeos, saponinas e óleos são exemplos de extrativos (RABELO et.al 2010).

A biomassa vegetal também contém uma pequena quantidade de espécies inorgânicas, tais como: potássio, sódio e cálcio. Nutrientes estes adquiridos durante seu crescimento (YU; LOU; WU, 2008).

3.12.PRÉ-TRATAMENTO

A eficiente redução da estrutura recalcitrante dos materiais lignocelulósicos e a liberação dos polissacarídeos estão entre uma das mais importantes e urgentes prioridades nas áreas de pesquisa e desenvolvimento para a indústria do etanol celulósico e para a obtenção de químicos em processos desenvolvidos em biorrefinaria (ZHANG et al., 2007; ZHANG, 2008). A hidrólise enzimática dos materiais lignocelulósicos é limitada por vários fatores tais como o grau de polimerização da celulose, a umidade do material lignocelulósico e a área superficial acessível (ZEEMAN, 2009). Entretanto, vários pesquisadores apontam que as duas principais causas de resistência dos materiais lignocelulósicos à hidrólise enzimática são: (1) a baixa acessibilidade às fibras celulósicas, as quais restringem a atividade das celulases, e (2) a presença de hemicelulose e principalmente de lignina na superfície da celulose, impedindo a ação das celulases ao substrato (KIM; HOLTZAPPLE, 2006; ZHANG et al., 2007; ZHANG, 2008).

Para um aproveitamento total da biomassa lignocelulósica é necessário que se faça uso de um pré-tratamento, já que o fracionamento da biomassa, que são processos complicados, tem baixo rendimento e ainda não são capazes de isolar completamente cada componente sem modifica-los ou degradá-lo (CANILHA et al., 2009).

As biomassas lignocelulósicas não contêm monossacarídeos expostos. Ao contrario elas contêm polissacarídeos, como celulose e hemiceluloses, os quais deve ser hidrolisados por ácidos ou enzimas para se obter açúcares fermentescíveis (CARL *et al.*, 2011).

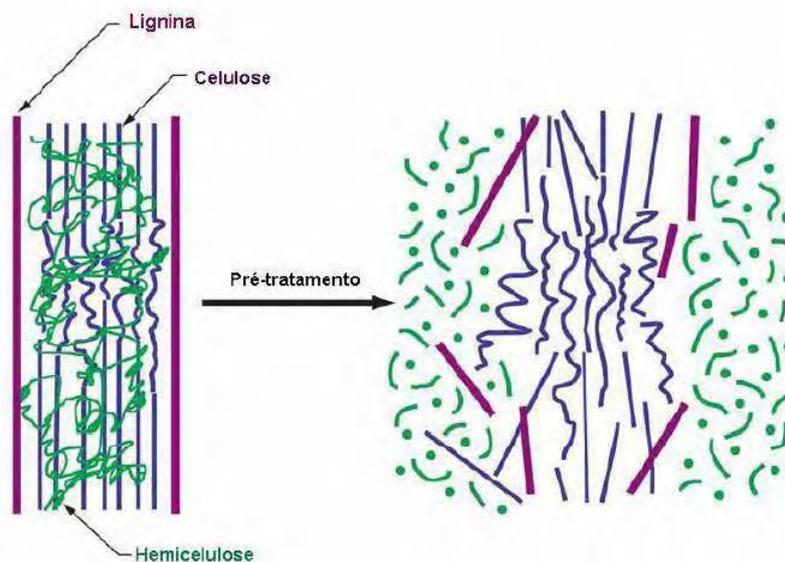
De modo geral, os pré-tratamentos devem ter as seguintes características:

- a) eficientes em termos de rendimento,
- b) seletividade,
- c) funcionalidade (garantindo acessibilidade da celulose aos agentes hidrolíticos),
- d) simplicidade operacional,
- e) segurança,
- f) higiene industrial e atributos ambientais,
- g) reduzido consumo de insumos químicos, energia e utilidades (BAUDEL, 2006).

Sem a etapa do pré-tratamento, a ação das enzimas é lenta e com rendimentos inferiores a 20%, mas com o uso de uma etapa de pré-tratamento pode se chegar a rendimentos superiores a 80% (MORAIS *et al.*, 2010)

A Figura 5 apresenta um esquema da transformação da biomassa durante a etapa de pré-tratamento em que se observa a alteração da estrutura e aumento da área superficial da celulose (CHANG *et al.*, 1998).

Figura 5 - Efeito do pré-tratamento no material lignocelulósico



Fonte: Adaptada pelo autor HSU *et. al.*,1980.

O uso das enzimas para hidrolisar a estrutura rígida da biomassa lignocelulósica é restrita, com isso, o pré-tratamento se faz necessário a fim de, modificar a estrutura da biomassa lignocelulósica, reduzir o tamanho das partículas e a cristalinidade da celulose e aumentar a área de contato e assim a acessibilidade e porosidade da biomassa lignocelulósica (LICARI *et al.*, 2016).

Diversos métodos têm sido propostos para a separação e aproveitamento das biomassas lignocelulósicas, podendo ser classificados em: físicos, químicos, físico-químicos e biológicos, além de combinações entre eles. Dois fatos gerais são determinantes para a escolha do melhor pré-tratamento a ser usado. São eles: material a ser tratado e a finalidade proposta (ASSUNPÇÃO, 2015). Para que o objetivo de um pré-tratamento seja alcançado com sucesso tem que haver o mínimo de perda ou degradação dos açúcares, além de, obter maior efetividade no processo de hidrólise enzimático realizado, conversão dos polímeros de celulose e hemiceluloses em açúcares fermentescíveis, maximizando a produção de biocombustíveis ou outros produtos químicos.

3.12.1 Pré-tratamentos físicos.

Os tratamentos feitos a partir dos métodos físicos incluem vários tipos de moedores, entre eles estão os moedores de bola, moedores de atrito, além de, compressão e irradiação. As vantagens desse pré-tratamento são: proporcionar o aumento da digestibilidade enzimática aumentando a área superficial da biomassa lignocelulósica e reduzir a cristalinidade da celulose, porém, suas desvantagens são: alto gasto energético, não remoção de lignina e hemicelulose e formação de inibidores (HIMMEL, 2008).

3.12.3 Pré-tratamentos físico-químicos

Essa técnica faz um aquecimento (160 a 290°C) rápido da biomassa lignocelulósica com vapor de alta pressão (20 a 60 bar) sem adição de qualquer substância química. A mistura resultando da explosão de vapor é mantida por um período até promover a hidrólise das hemiceluloses, e finalizada com uma descompressão explosiva. Esse pré-tratamento é nomeado de explosão a vapor ou pré-tratamento de autohidrólise. (BALAT, 2008).

Nesse pré-tratamento as vantagens são: baixo consumo de energia, não envolvimento de reciclo (CARL, 2010), as desvantagens são: etapa adicional para remoção da lignina, alto controle das variáveis de processo e equipamentos resistentes a alta pressão (ASSUNPÇÃO, 2015). Esse tipo de tratamento é considerado a opção com maior custo-benefício para resíduos agrícolas (BALAT, 2008).

3.12.4 Pré-tratamento biológico

No pré-tratamento biológico é feito o uso de fungos, bactérias ou enzimas (lacases) para a deslignificação e redução do grau de polimerização da celulose e hemiceluloses. As vantagens desse tratamento são: baixo gasto energético, processo limpo e ideal para materiais com alto teor de carboidratos, sua maior desvantagem é ser lento para ser aplicado industrialmente. Outra desvantagem é que fungos e bactérias não são seletivos, assim, além de degradarem as hemiceluloses e lignina, degradam a celulose (SANTOS *et al.*, 2013)

3.12.5 Pré-tratamento com solventes orgânicos

Outro pré-tratamento é a utilização de solventes orgânicos tais como: metanol, etanol, acetona entre outros. Eles são utilizados como pré-tratamento da biomassa lignocelulósica no processo de solubilização de lignina (CARL, 2010). As vantagens desse tratamento são: remoção da lignina e hemiceluloses, obtenção da lignina com alto grau de pureza. Suas desvantagens são: formação de inibidores, alto custo da recuperação do solvente e a necessidade de fazer a remoção do solvente residual (SUN *et al.*, 2002).

3.12.6 Pré-tratamentos químicos com solução alcalina.

Comparado com outros tratamentos o pré-tratamento alcalino tem despertado bastante interesse, por se tratar de um tratamento com baixo custo econômico para diversão biomassa lignocelulósicas (BELKACENI *et al.*, 1998). Utiliza-se soluções alcalinas diluídas em condições moderadas em comparação aos tratamentos ácidos, podendo ser processado em condições ambientes, mas exigindo um período de tempo muito grande, horas, dias ou semanas, ao contrário dos tratamentos com ácidos que são processados em minutos ou segundos (SANTOS, 2013). Vários são os reagentes alcalinos usados para promover o pré-tratamento, tais como, hidróxido de sódio, hidróxido de cálcio, hidróxido de potássio, carbonato de sódio e amônia, entre os vários, os mais utilizados são hidróxido de sódio e hidróxido de potássio (SUN *et al.*, 2016)

A remoção da lignina é o principal efeito desse pré-tratamento que consiste em embeber a biomassa lignocelulósica em uma solução alcalina. Esse processo leva à diminuição na cristalinidade e do grau de polimerização da celulose, provocando quebra das ligações lignina-carboidrato, causando perturbação da estrutura da lignina (CHANG e HOLTZAPPLE, 2000).

3.12.7 Pré-tratamento químico com ácido

O pré-tratamento com ácido diluído geralmente se encontra nas condições: faixa de concentração de 0,2 a 2,5 % (m/m), temperaturas que variam de 140 a 200 °C, com tempo de reação na faixa de minutos ou horas (SANOTS, 2013). Objetivo é solubilizar as hemiceluloses, e com isso deixar a celulose mais acessível para a etapa de hidrólise enzimática (HENDRIKS; ZEEMAN, 2009).

Com o uso de ácido diluído no pré-tratamento da biomassa lignocelulósica, as reações secundárias gerando produtos de degradação são menores do que usando o ácido concentrado e a digestibilidade do material pré-tratamento tem uma boa relação com a remoção da fração hemicelulósica (HENDRIKS; WYMAN, 1994; ZEEMAN, 2009).

São dois os tipos de processos usando ácido diluído: o primeiro utiliza temperaturas superiores a 160 °C, com fluxo contínuo, com baixas cargas de sólidos 5-10% (m/m); o outro processo trabalha com temperaturas inferiores a de 160 °C, em batelada, com alta carga de sólidos 10-40% (m/m) (SAHA, 2003; SUN, 2002). No pré-tratamento com ácido diluído ocorre a hidrólise das hemiceluloses em açúcares como xilose, arabinose, entre outros que são solúveis em água, e tem formação de resíduo sólido rico em celulose e lignina. O pH do hidrolisado hemicelulósico adquirido do processo de pré-tratamento ácido diluído tem que ser corrigido para a sua utilização nos processos fermentativos. Um pH desfavorável pode afetar sua eficiência de conversão, uma vez que o pH baixo ou alto pode prejudicar o microrganismo da fermentação (SAHA,2003). Na aplicação do pré-tratamento com ácido diluído um importante dado deve ser considerado é o fator combinado de severidade (FCS), este é, o valor que combina dados de temperatura, tempo e concentração de ácido utilizado em um processo.

A hidrólise com ácido sulfúrico diluído, 0.5 a 1.5% (m/v) e temperaturas a cima de 160 °C tem sido o processo preferido para aplicações industriais, por conta do alto rendimento de açúcares a partir da hemicelulose 75-90% de xilose (HAMELINCK; HOOIJDONK; FAAIJ, 2005; SEABRA, 2008), e também por melhorar o processo subsequente que consiste na hidrólise enzimática da celulose (YU; LOU; WU, 2008).

Devido aos motivos citados acima a etapa de pré-tratamento da biomassa é parte fundamental para a produção do etanol 2G. Este processo encontra-se presente em diversos trabalhos na literatura aplicado a variadas fontes de biomassas como matéria-prima e em diversas condições analisadas.

3.13 SEVERIDADE

Para facilitar a compreensão de diferentes condições de pré-tratamento foram combinados alguns parâmetros como temperatura (T) e tempo (t) em uma única grandeza, chamada de fator de severidade (definida como R_0). Para uma reação onde a cinética é de primeira ordem, foi desenvolvida a Equação 1 (OVERND; CHORNET, 1987)

$$\log(R_0) = \log \left[t \cdot \exp \left(\frac{(T-100)}{14,75} \right) \right] \quad (1)$$

O uso desta equação permite identificar o quão severo é o pré-tratamento e como estas condições podem alterar. Além disso, foi evidenciado a importância da acidez do meio, sobre a severidade do pré-tratamento, e foi adicionada a variável pH na equação 1 e denominada de fator combinado de severidade (FCS) conforme abaixo (MORI, 2015).

$$FCS = \log(R_0) - pH \quad (2)$$

A introdução do termo pH a fórmula da severidade possui um papel importante uma vez que permite fazer a comparação de diferentes pré-tratamentos. Por exemplo, utilizando os mesmos parâmetros de temperatura e tempo de processo, mas utilizando ácido diluído, com pH aproximadamente 2, e outro usando apenas água com pH aproximado de 6, o resultado final entre eles será diferente devido a presença de ácido. Se pegamos apenas a Equação 1, ambos os pré-tratamento terão a mesma severidade, porém, subtraindo o valor de pH pode se observar que o tratamento com ácido é mais severo que o hidrotérmico (MORI, 2015).

Um pré-tratamento conduzido em baixa severidade pode levar a uma divisão incompleta da biomassa lignocelulósica, enquanto um de alta severidade pode resultar em uma desconstrução de lignina. Portanto, em alta severidade pode haver formação de compostos indesejáveis (HMF, furfural, etc) em maior concentração, que irão prejudicar as etapas subsequentes do processo, levando a baixos rendimentos (SENDELIUS, 2005).

4 MATERIAS E MÉTODOS

Neste capítulo serão apresentados os reagentes, matéria prima e equipamentos utilizados para as condições do pré-tratamento da biomassa lignocelulósica. Também serão apresentados os métodos para a caracterização do material.

A matéria-prima utilizada nessa dissertação foi proveniente da Usina Abengoa Bioenergia São João (São João da Boa Vista - São Paulo, Brasil), safra de 2015/2016. Os reagentes químicos e equipamentos utilizados estão listados nas Tabelas 3 e 4, respectivamente.

Tabela 3 - Reagentes utilizados nos experimentos

Reagente	Grau de pureza (%)	Fabricante
Ácido sulfúrico	95-98%	Synth
Hidróxido de sódio	97 %	Synth
Ácido cítrico anidro	99,5 %	Dinâmica
D-(+)-glucose	99,5 %	Sigma Aldrich
D-(+)-Celobiose	≥ 98,0 %	Sigma Aldrich
D-(+)-Xilose	≥ 99,0 %	Sigma Aldrich
D-(-)-Arabinose	≥ 99,0 %	Sigma Aldrich
Ácido acético	≥ 99,7 %	Sigma Aldrich
Furfural	≥ 99,0 %	Sigma Aldrich
5-hidroximetilfurfural	≥ 99,0 %	Sigma Aldrich
Ácido levulínico	98,0 %	Sigma Aldrich
Celulase <i>from</i> Trichoderma reese Celuclast [®] 1.5L*	-	-
Celobiase <i>from Aspergillus niger</i> Novozyme 188*	≥250 units/g	Sigma Aldrich / Lot.: N°. 011M2020
Extrato de levedura	-	Fluka Analitica. / Lot.: N°. BCBD4174V
Bacto peptone	-	Becto Dickinson & Co. / Lot.: N°. 1269920
Glicose	99,5 %	Synth
Ureia	≥ 98,0 %	Synth/ Lot.: N°. 172956
Tiamina	≥ 98,0 %	Sigma – Aldrich / Lot.: N°. 100DM019V
DAP	≥ 98,0 %	Sigma – Aldrich / Lot.: N°. SLBD5797V
Sulfato de Magnésio	≥ 98,0 %	Synth / Lot.: N°.170527
Sulfato de Zinco	99%	Sigma – Aldrich / Lot.: N°.MKBH1967V
Ampicilina	1%	-
Kamoram	5%	Elanco
Água deionizada	-	-
Água destilada	-	-

Fonte: Do autor.

Tabela 4 - Equipamentos utilizados nos experimentos

Equipamento	Marca/ modelo
Autoclave vertical AV-50 Plus	PHOENIX LUFERCO®
Estufa de secagem com renovação e circulação de ar	LABOR
Moinho analítico A-11	IKA® WERKE
Balança analítica	BEL ENGINEERING
Balança semi-analítica	GEHAKA
CLAE	AGILENT TECHNOLOGIES
Purificador de água	MEGA PURITY
Destilador de água	QUIMIS®
Bomba de vácuo	PRISMATEC
Mufla	QUIMIS®
Coluna de troca iônica – HPX-87H	BIO-RAD AMINEX®
Coluna C18 4µm	NOVA-PAK
Espectrofotômetro	SHIMADZU UV MINI 1240

Fonte: Do autor.

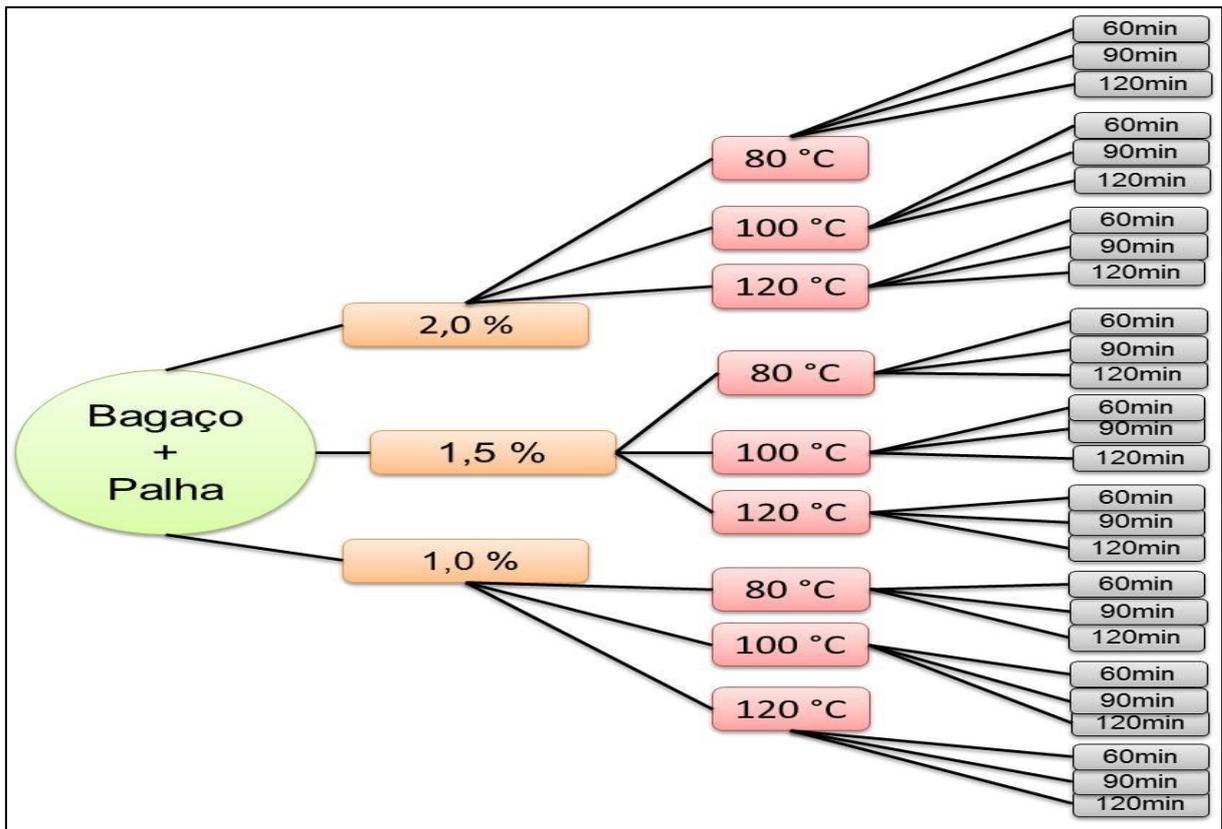
Antes de realizar a análise de composição química e proceder com o processamento da biomassa por pré-tratamento ácido, o bagaço de cana-de-açúcar foi seco em condições ambiente durante 3 dias para remover a umidade da matéria-prima. O teor de umidade médio destes materiais, após a secagem foi de cerca de 7,40 %. A palha por sua vez não precisou ficar exposta a secagem uma vez que sua umidade já estava próxima a 7,30%. O teor de umidade do bagaço e da palha foi determinado por ensaios em estufa comparando o peso da matéria antes e depois de permanência de 24 horas em estufa a 60°C. A matéria-prima utilizada foi composta de palha e bagaço de açúcar nas proporções de 1:1.

A determinação do teor de umidade é necessária, pois está relacionada com sua estabilidade, qualidade e composição, além de que é um fator determinante para os processos microbiológicos, como o desenvolvimento de bactérias, fungos e leveduras. Nas matérias-primas é de fundamental importância o conhecimento do teor de umidade para a conservação, armazenamento e manutenção da sua qualidade.

Após a secagem a mistura foi triturada grosseiramente utilizando um moinho de facas analítico com a finalidade de romper os materiais fibrosos. Para facilitar a pesagem do material no processo de pré-tratamento.

O pré-tratamento foi realizado com variação de três parâmetros: concentração de ácido sulfúrico (1, 1,5, 2%), temperatura (80, 100, 120°C) e tempo (60, 90, 120 min), como mostra a Figura 6, fixando em 20% a carga de sólidos para cada 100 g do material in natura, esse valor de sólidos é descrito como ótimo por TOVAR et.al., 2014.

Figura 6 - Esquema do pré-tratamento



Fonte: Do autor.

O processo de pré-tratamento foi efetuado em uma autoclave vertical. Todos os experimentos foram realizados em duplicata e os valores médios reportados.

Após o pré-tratamento ácido, as amostras contidas nos frascos de vidro com tampas azuis e anéis de vedação, foram filtradas, obtendo-se duas frações: a sólida e a líquida.

A fração sólida, nomeada como fração sólida insolúvel (FSI), foi lavada com água corrente até atingir pH próximo de 6. O material sólido foi, em seguida, seco a 105 ± 1 °C em estufa com renovação de ar e circulação, durante 24 h, antes da posterior análise de composição. Uma quantidade representativa da mistura bagaço mais palha de cana-de-açúcar foi moída usando um moinho analítico (com uma lâmina de corte para pulverizar materiais fibrosos) e peneirada para um tamanho máximo de partícula de 0,21 mm, adequada para a análise de composição de matéria-prima. A fase líquida foi devidamente descartada.

4.1 CARACTERIZAÇÃO DA FRAÇÃO SÓLIDA INSOLÚVEL (BAGAÇO MAIS PALHA DE CANA-DE-AÇÚCAR IN-NATURA E DO MATERIAL PRÉ-TRATADO)

Toda a composição química da fração sólida insolúvel (mistura do bagaço mais palha de cana-de-açúcar in-natura e do material pré-tratado) foi determinada por um método de hidrólise ácido analítico seguido de análise cromatográfica para quantificar o teor de carboidratos de acordo com os protocolos disponibilizados por *National Renewable Energy Laboratory (NREL)*, seguindo o protocolo intitulado: "Determinação de carboidratos estruturais e lignina na biomassa" (NREL, 2013), no entanto com modificações no procedimento como descrito a seguir.

4.1.1 DETERMINAÇÃO DOS CARBOIDRATOS ESTRUTURAIIS E LIGNINA

A caracterização da mistura palha mais bagaço de cana-de-açúcar foi feita com uma hidrólise em duas etapas: Primeiramente foram pesados 0,300 gramas da mistura seca em tubos de ensaio, depois adicionados à esta matéria-prima 3 mL de ácido sulfúrico com concentração de 72%. Os tubos vedados com filme plástico foram então incubados em banho termostático a 30°C por 1 hora e com auxílio de um bastão de vidro, as amostras foram homogeneizadas em intervalos de 10 minutos. Ao término da hidrólise, todo conteúdo do tubo de ensaio foi transferido para um frasco reagente de 250 mL, com tampa e anel de vedação, e foram adicionados 84 mL de água destilada para obter a concentração final de 4%. Posteriormente, o sistema reacional foi fechado e levado à autoclave a 120°C durante 1 hora. Depois desta hidrólise o conteúdo do frasco foi filtrado em papel filtro qualitativo previamente tarado; uma alíquota do filtrado foi retirada para análises de carboidratos, inibidores e lignina solúvel (SLUITER et al., 2008c,d)

4.1.2 LIGNINA SOLÚVEL

Para se obter o teor de lignina solúvel foi recolhida uma amostra de 1 mL do hidrolisado do licor e adicionada a um balão volumétrico de 25 mL contendo 0,5 mL de NaOH (hidróxido de sódio) 6,5 molar, completando o volume com água deionizada; foi então feita a medida em espectrofotômetro UV-visível na absorbância de 280 nm, garantindo a Lei de Beer-Lambert. A quantidade de lignina foi calculada conforme as Equações 6 e 7:

$$C_{lig} \left(\frac{g}{L} \right) = 4,187 \times 10^{-2} (A_T - A_{PD}) - 3,279 \times 10^{-4} \quad (3)$$

onde: C_{lig} : concentração de lignina solúvel, em g/L; AT : absorvância da solução de lignina junto com os produtos de degradação, em 280 nm; $A_{pd} = c_1 \epsilon_1 + c_2 \epsilon_2$ – absorvância, em 280 nm, dos produtos de decomposição dos açúcares (furfural e 5-HMF), cujas concentrações c_1 e c_2 foram determinadas previamente por CLAE (cromatografia líquida de alta eficiência) e ϵ_1 e ϵ_2 são as absorvâncias e valem, respectivamente, 146,85 e 114,00 L g⁻¹ cm⁻¹.

$$Lignina\ solúvel\ (\%) = \left[\frac{C_{lig}(g/L) \times V_{filtrado} \times FD}{M_{biomassa\ para\ caracterização}} \right] \times 10 \quad (4)$$

Onde: $V_{filtrado}$: Volume do hidrolisado filtrado, 0,087 L; FD : Fator de diluição para leitura da absorvância $M_{biomassa\ para\ caracterização}$: Massa utilizada para caracterização (aproximadamente 0,3000 g).

4.1.3 LIGNINA INSOLÚVEL

O resíduo retido no filtro foi neutralizado com lavagens sucessivas usando 1,5 L de água deionizada; após neutralizado o filtro foi seco em estufa a 105°C e posteriormente pesado. O conteúdo de lignina insolúvel foi calculado pela diferença entre o peso do resíduo insolúvel que permaneceu no papel filtro e o conteúdo de cinzas da biomassa. Posteriormente, os materiais (sólidos retidos em papel de filtro) foram calcinados em forno mufla a 400 °C durante 1 hora e a 800 °C por mais 2 horas. A massa obtida após cada processo foi mensurada a partir de uma balança analítica. A fração de lignina insolúvel presente nos resíduos foi calculada a partir da Equação 5:

$$Lignina\ insolúvel\ (\%) = \left(\frac{M_1 - MPFS}{M_0} \times 100 \right) - Cinzas\ II\ (\%) \quad (5)$$

M_1 : massa do papel filtro mais lignina insolúvel após a secagem em estufa, em gramas (g) $MPFS$: massa do papel filtro seco, em gramas (g) M_0 : massa inicial de amostra, em gramas (g) $Cinzas\ II$: percentual de cinzas obtidas na calcinação dos sólidos retidos + papel filtro.

4.1.4 DETERMINAÇÃO DE CINZAS

O teor de cinza foi determinado como o objetivo de quantificar o material inorgânico na biomassa, estrutural ou extraível, como parte da composição total. Para determinação do teor de cinzas da biomassa pesou-se cerca de $1,00 \pm 0,001$ g da biomassa em cadinhos de porcelana previamente calcinados e tarados. A análise foi realizada com a biomassa seca a 105°C previamente. A amostra foi então aquecida em forno mufla a 400°C por 1 hora, posteriormente a temperatura foi elevada para 800°C por mais 2 horas. Após este período o cadinho foi resfriado em dessecador, sendo em seguida realizado a pesagem e posterior cálculo do conteúdo de cinzas na biomassa. As análises foram realizadas em duplicata. Para o cálculo do teor de cinzas, tem-se:

$$\text{Cinzas (\%)} = \left(\frac{M_3 - M_1}{M_2 - M_1} \right) \times 100 \quad (6)$$

M1: massa do cadinho calcinado vazio, em gramas (g) M2: massa do cadinho + massa da biomassa seca a 105°C , em gramas (g) M3: massa do cadinho com as cinzas, em gramas (g).

4.1.5 DETERMINAÇÃO DOS EXTRATIVOS

Os extrativos foram determinados com o objetivo de quantificar os extrativos para a caracterização química da biomassa e remover o material não estrutural antes da quantificação da lignina e dos carboidratos para que não haja interferência nestas etapas analíticas. Para determinação dos extrativos foi determinado anteriormente o teor de umidade das amostras como já descrito. Adicionou-se aproximadamente 4,0 g de amostra ao cartucho de extração e introduzido no tubo de extração do Soxhlet. Adicionou-se 200 mL de água destilada no balão do extrator que foram submetidos ao aquecimento. A extração ocorreu até que o solvente em torno do cartucho de extração se tornasse incolor. Após a extração em água, as amostras foram submetidas a extração utilizando álcool etílico e submetidas ao aquecimento. A extração foi mantida até desaparecimento total da coloração. Ao término da extração, os sólidos foram transferidos e lavados com 100 mL de etanol, filtrados à vácuo e secos em estufa a 105°C até massa constante, determinada em balança analítica. Para o cálculo do teor dos extrativos, tem-se:

$$\%Extrativos = \left(\frac{M_1 - M_2}{M_1} \right) \times 100 \quad (7)$$

M1: massa da amostra descontado o teor de umidade, em gramas (g) M2: massa da amostra livre de extrativos, em gramas (g)

4.1.6 QUANTIFICAÇÃO DE CARBOIDRATOS

A análise cromatográfica dos carboidratos foi realizada em um Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência marca Shimadzu (LC-10Series Avp; desgaseificador: DGU-14A, integrador: CLASS LC-10), com eluição isocrática, pelo bombeamento (LC-10AD) de uma fase móvel composta de 5mM de ácido sulfúrico em água ultrapura (destilada e deionizada). O fluxo do eluente foi de 0,6 mL/min, a 30°C (forno de coluna CTO-10A), com corrida de tempo total de 20 minutos. A detecção se deu em detector de índice de refração (Shimadzu, modeloRID-10A). Uma alíquota de 20,0 µL da amostra foi injetada manualmente (injetor Rheodyne - iL malha 20) e permeada por uma coluna Phenomenex Rezex ROA-OrganicAcid H+ (300 x 7,8 mm) com conexão direta a cartucho de segurança Phenomenex Carbo-H (4 x 3 mm) preenchida com material semelhante ao da coluna principal. As concentrações de celobiose, glicose, xilose e arabinose foram determinadas por meio de curvas de calibração obtidas por padrões analíticos. A curva foi construída utilizando soluções de concentrações conhecidas correlacionadas com suas respectivas áreas obtidas após a injeção no cromatógrafo. Com esses resultados foi possível calcular a concentração desconhecida de açúcar dado a área obtida após a injeção no cromatógrafo. Foram preparadas soluções padrões de concentração de celobiose, glicose, xilose e arabinose. Para o cálculo das concentrações de açúcares, temos:

$$Açúcares (\%) = \left(\frac{C_{CLAE} \times CA \times V_{filtrado}}{M_1} \right) \times 100 \quad (8)$$

CCLAE: concentração do açúcar quantificado pro CLAE, em g/L CA: anidro correção para calcular a concentração polimérica dos açúcares dada a concentração monomérica dos açúcares. Para a celobiose, glicose, xilose e arabinose temos, 0,95; 0,90; 0,88

e 0,88, respectivamente V_{filtrado} : volume do hidrolisado filtrado, 0,087L M_1 : massa da biomassa utilizada na hidrólise descontado o teor de umidade, em gramas (g).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Antes da etapa do pré-tratamento foi analisado um quantidade da mistura bagaço mais palha de cana-de-açúcar *in natura*. A Tabela 5 apresenta a composição da mistura *in natura* proveniente da Usina Abengoa Bioenergia São João (São João da Boa Vista - São Paulo, Brasil).

Como pode ser observado na Tabela 5, para a composição da mistura bagaço e palha de cana-de-açúcar (50% em massa de cada uma) *in natura* foram encontrados 37,47% de celulose, 26,96 % de Hemicelulose, 22,93% de Lignina, 7,64% de Extrativos e 4,85% de Cinzas. Em Lopes, 2015 encontrou-se 40,45% de celulose, 30,61 % de Hemicelulose, 19,09% de Lignina, 8,96 % de Extrativos e 2,48 de Cinzas para o bagaço da cana-de-açúcar. Silva, 2009 caracterizou a palha da cana-de-açúcar encontrando 38,1% de celulose, 29,2% de hemiceluloses, 24,2% de Lignina, 5,9% de Extrativos e 2,4% de Cinzas.

Tabela 5 - Composição da mistura bagaço mais palha de cana-de-açúcar *in natura*.

Componente	Conteúdo ± desvio padrão
Celulose	37,47±1,62
Hemiceluloses	26,96±0,65
Lignina	22,93±2,32
Extrativos	7,64±1,36
Cinzas	4,85±1,03

Fonte: Do autor.

Desta forma, de acordo com os valores apresentados na Tabela 5, obtidos neste trabalho, é possível observar que os valores de celulose, hemiceluloses, lignina, extrativos e cinzas obtidos estão dentro dos intervalos reportados na literatura.

O fato de a composição química apresenta certa diversidade de dados não causa surpresa uma vez que as principais frações de materiais lignocelulósicos, dependem, entre outros fatores, da variedade, genética das plantas, localização, práticas agrícolas utilizados para fazer crescer a cultura, condições de processamento, bem como sobre os métodos utilizados para a análise da composição. Além disso, o bagaço de cana-de-açúcar, como

muitas outras fontes de biomassa, é um subproduto de um processo industrial, que introduz uma fonte adicional de variação composicional (Canilha et al. 2012, Canilha et al.2010).

A partir da equação 2 e 3 foi possível analisar o fator de severidade e o fator combinado de severidade do pré-tratamento que estão nas Tabelas 6, 7 e 8. O fator de severidade é um fator importante a ser avaliado em um pré-tratamento. Estudos feitos por HEITZ et al., (1989) demonstram que a celulose resiste até uma severidade de $\log R_0 = 3,8$ e despolimeriza rapidamente após este valor, o que limita o pré-tratamento a valores próximos de 3. O fator de severidade em todas as condições ficaram a baixo de 3,8.

Tabela 6 -Fator de severidade e fator de severidade combinado para concentração de ácido sulfúrico de 1,0%.

Tempo (min)	Temp (°C)	Rendimento (m/m)	Fator de severidade (log (Ro))	Fator combinado de Severidade
60	80	84,40±0,18	1,19	0,06
	100	83,55±0,16	1,37	0,65
	120	62,82±0,03	1,49	1,24
90	80	82,58±0,42	1,78	0,24
	100	80,93±0,32	1,95	0,82
	120	69,23±0,06	2,08	1,41
120	80	83,24±0,24	2,37	0,36
	100	78,62±0,36	2,54	0,95
	120	60,48±0,71	2,67	1,54

Fonte: Do autor.

Tabela 7 - Fator de severidade e fator de severidade combinado para concentração de ácido sulfúrico de 1,5%.

Tempo (min)	Temp (°C)	Rendimento (m/m)	Fator de severidade (log (Ro))	Fator combinado de Severidade
60	80	81,57±0,32	1,19	0,11
	100	78,32±0,12	1,37	0,70
	120	69,02±0,42	1,49	1,29
90	80	81,80±0,62	1,78	0,29
	100	80,43±0,42	1,95	0,87
	120	69,27±0,72	2,08	1,46
120	80	81,20±0,21	2,37	0,41
	100	79,67±0,42	2,54	1,00
	120	66,54±0,65	2,67	1,59

Fonte: Do autor.

Tabela 8 - Fator de severidade e fator de severidade combinado para concentração de ácido sulfúrico de 2,0%.

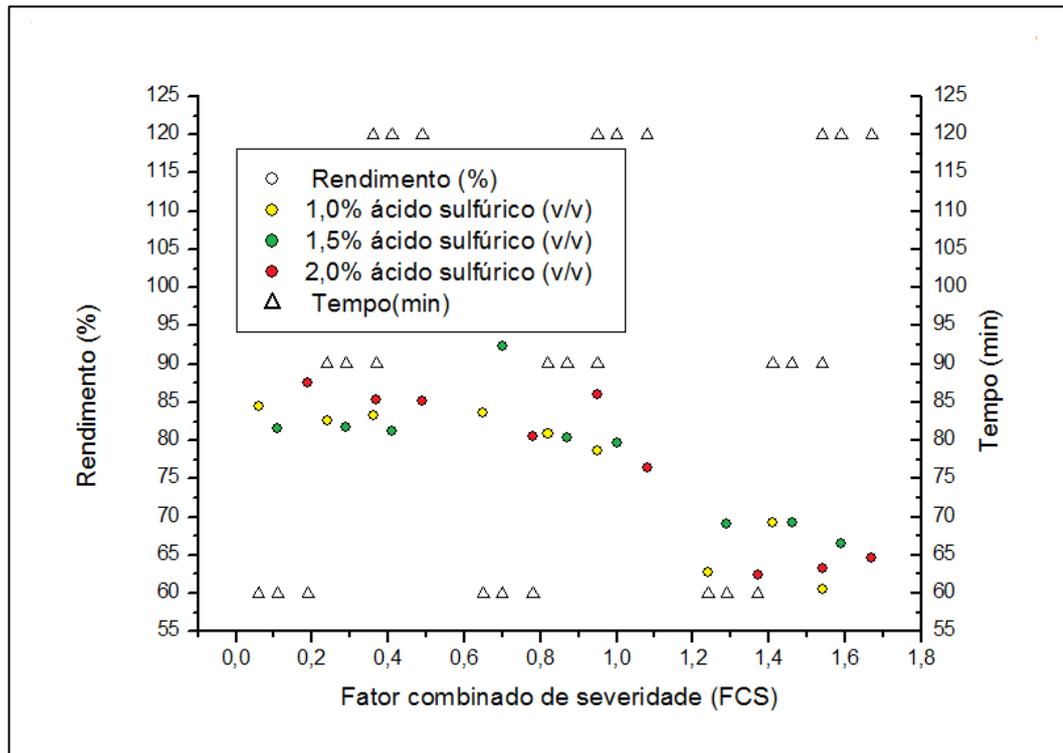
Tempo (min)	Temp (°C)	Rendimento (m/m)	Fator de severidade (log (Ro))	Fator combinado de Severidade
60	80	87,52±0,36	1,19	0,19
	100	80,47±0,52	1,37	0,78
	120	62,37±0,40	1,49	1,37
90	80	85,26±0,32	1,78	0,37
	100	86,06±0,93	1,95	0,95
	120	63,29±0,51	2,08	1,54
120	80	85,09±0,64	2,37	0,49
	100	76,43±0,06	2,54	1,08
	120	64,70±0,51	2,67	1,67

Fonte: Do autor.

Usando apenas o fator de severidade combinado, que leva em consideração o pH do pre-tratamento foi possível analisar o comportamento para cada combinação estipulada. A Figura 7 leva em consideração o rendimento o fator de severidade combinado e tempo de reação, já na Figura 8 o tempo é substituído pela temperatura da reação.

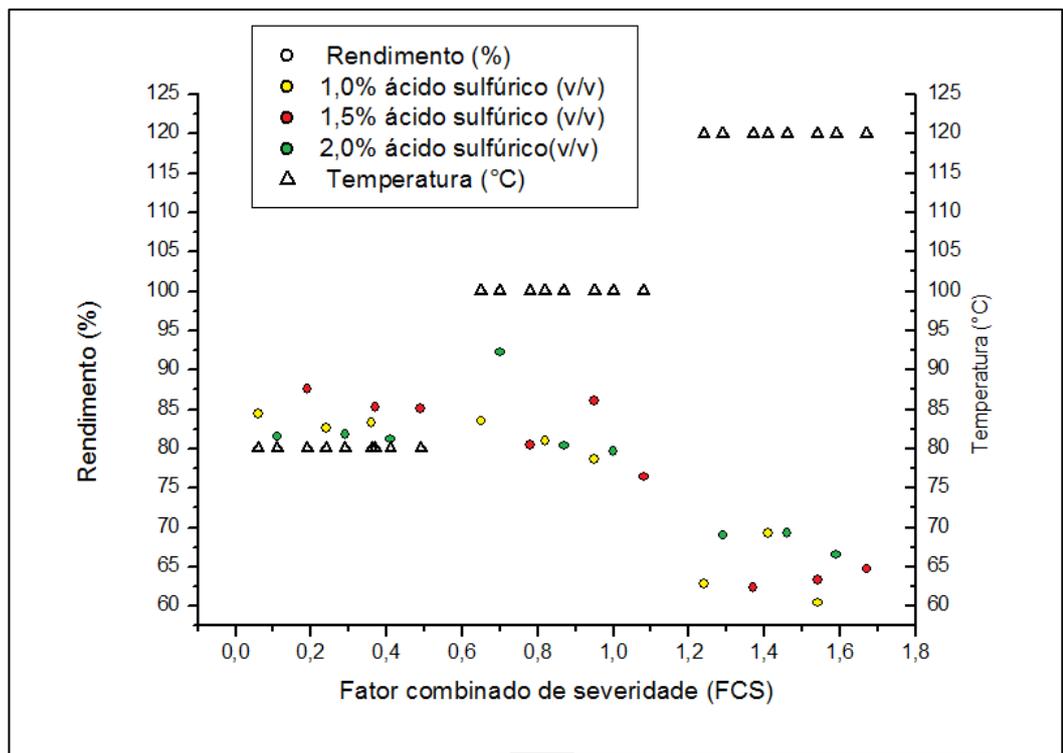
Na Figura 7 pode-se observar que o tempo não influenciou o rendimento, essa análise fica mais claro se dividir o gráfico da Figura 7 em 3 partes, notasse que o rendimento não aumenta ou diminui com o aumento do tempo da reação. Porém a temperatura sim, quanto maior a temperatura, menor será o rendimento. A variação da temperatura pode ser observada no gráfico da Figura 8, se dividir o gráfico em 3 partes notasse que para cada parte onde a um aumento da temperatura a uma queda no rendimento. A concentração de ácido sulfúrico em 1, 1,5 e 2% não foi muito significativa para o rendimento. Para obter um SC alto, é necessário trabalhar com altas temperaturas (120 ° C) e tempo de 120 min.

Figura 7 - Fator combinado de severidade x tempo



Fonte: Do autor.

Figura 8 - Fator combinado de severidade x temperatura



Fonte: Do autor.

Após a realização da etapa do pré-tratamento as amostras foram filtradas e a fração líquida foi analisada em HPLC. Como mostra a Figura 6, as amostras foram preparadas com três variáveis, sendo elas: concentração de ácido sulfúrico (1, 1,5 e 2%), temperatura (80, 100 e 120 °C) e tempo (60, 90 e 120 min) na autoclave. A composição de celulose encontrada na fração líquida variou de 51,32 a 60,89 %, a porcentagem de Hemiceluloses encontrada variou de 9,26 a 16,45 % e a quantidade de lignina variou de 26,32 a 29,24 %.

Encontram-se também nas Tabela 6, 7 e 8 o rendimento mássico e o balanço de massa das amostras para as concentrações de 1, 1,5 e 2 % de ácido sulfúrico. O rendimento mássico ficou em torno de 75%, o que já é esperado para um pré-tratamento com ácido sulfúrico. O balanço de massa apresenta valores próximos a 100%, os valores encontrados estão aceitáveis para os processos experimentais realizados.

Na Tabela 9 encontram-se as concentrações de celulose, hemiceluloses, lignina, cinzas I, rendimento e balanço de massa após pré-tratamento com ácido sulfúrico a 1% para a mistura palha mais bagaço de cana-de-açúcar. O ponto considerado ótimo para essa condição de pré-tratamento foi em 90 minutos e temperatura de 120°C. Encontrou 60,89 de celulose, 9,26% de hemiceluloses, 29,12% de lignina e 2,35 de cinzas.

Na Tabela 10 encontra-se o ponto ótimo obtido pelo pré-tratamento ácido a 1,5 %, sendo ele a 120 °C e 60 min na autoclave. Obteve-se 57,32 % de Celulose, 11,98 % de Hemiceluloses, 27,64 % de Lignina e 2,32 % de cinzas.

Na Tabela 11 encontra-se o ponto ótimo obtido pelo pré-tratamento ácido a 2,0 %, sendo ele a 120 °C e 60 min na autoclave. Obteve-se 54,23 % de Celulose, 13,98 % de hemiceluloses, 26,56 % de Lignina e 2,98 % de cinzas.

Lopes, 2015 em seus estudos mostram que o bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado com 1 % (m/m) de ácido sulfúrico a 121 °C por 80 minutos obteve concentrações de 63,32 de celulose, 12,65 de hemiceluloses e 23,65 de lignina. No estudo de Chen et al. (2012), que pré-trataram o bagaço de cana-de-açúcar com ácido diluído (em um ambiente de irradiação de microondas) são apresentados valores para conversões máximas de hemicelulose e celulose de 45,4 % e 7,0 %, respectivamente, a 0,005 M de H₂SO₄. Estes valores são inferiores aos encontrados neste trabalho (76,31 ± 3,77 % e 12,12 ± 0,25 %) o que pode ser devido ao fato de que a concentração de H₂SO₄ utilizada ser menor em relação à usada neste.

Por outra parte, Giese et al. 2012 pré-tratou o bagaço de cana-de-açúcar com 100 mg de H₂SO₄/g de bagaço em peso seco em um reator de 50 L durante 20 minutos a 121 °C. Obteve-se valores de 50,70 % para celulose, 8,04 % para hemiceluloses e 33,24 % para

lignina. Resultados similares foram obtidos por Rezende et al. 2011, processando bagaço de cana-de-açúcar no PHCA diluído a 1 % v/v, por 40 minutos a 120 °C e obteve $51,2 \pm 0,2$ % de celulose, $7,8 \pm 0,7$ % de hemiceluloses e $29,5 \pm 0,6$ % de lignina.

Tabela 9 - Concentrações de celulose, hemiceluloses, lignina, cinzas I, rendimento e balanço de massa após pré-tratamento com ácido sulfúrico a 1%.

Tempo (min)	Temp (°C)	Celulose (%)	Hemiceluloses (%)	Lignina (%)	Cinzas (%)	Rendimento (m/m)	Balanço Massa (%)
	80	57,96±0,05	10,65±0,09	28,65±0,16	2,13±0,06	84,40±0,18	99,39±0,01
60	100	57,13±0,03	11,64±0,45	27,23±0,05	2,15±0,08	83,55±0,16	98,15±0,20
	120	56,64±0,16	10,56±0,32	26,32±0,07	2,89±0,13	62,82±0,03	96,41±0,06
90	80	56,64±0,12	11,36±0,02	28,54±0,19	3,01±0,12	82,58±0,42	101,5±0,91
	100	57,64±0,06	10,67±0,06	27,89±0,08	3,05±0,06	80,93±0,32	99,25±0,35
	120	58,19±0,04	9,26±0,04	29,12±0,12	2,35±0,12	69,23±0,06	101,6±0,65
120	80	56,76±0,03	9,87±0,32	28,64±0,91	2,98±0,45	83,24±0,24	98,25±0,05
	100	55,96±0,06	11,36±0,12	27,46±0,65	2,68±0,81	78,62±0,36	97,46±0,032
	120	57,81±0,12	10,74±08	26,98±0,35	3,12±0,05	60,48±0,71	98,65±0,41

Fonte: Do autor.

Tabela 10 - Concentrações de celulose, hemiceluloses, lignina, cinzas I, rendimento e balanço de massa após pré-tratamento com ácido sulfúrico a 1,5 %.

Tempo (min)	Temp (°C)	Celulose (%)	Hemiceluloses (%)	Lignina (%)	Cinzas (%)	Rendimento (m/m)	Balanço Massa (%)
	80	53,24±0,42	13,98±0,54	28,65±0,26	2,56±0,93	81,57±0,32	99,93±0,42
60	100	54,96±0,36	13,56±0,36	27,32±0,81	2,65±0,25	78,32±0,12	98,49±0,95
	120	57,32±0,2	11,98±0,12	27,64±0,06	2,32±0,43	69,02±0,42	98,43±0,65
90	80	54,98±0,65	15,45±0,09	28,32±0,37	3,12±0,14	81,80±0,62	101,8±0,03
	100	54,12±0,81	13,75±0,04	27,26±0,15	2,98±0,52	80,43±0,42	98,11±0,12
	120	55,64±0,62	12,45±0,23	28,65±0,69	2,56±0,06	69,27±0,72	99,30±0,32
120	80	56,61±0,32	12,71±0,65	26,89±0,45	2,45±0,35	81,20±0,21	98,66±0,47
	100	56,32±0,01	12,48±0,41	27,65±0,62	2,69±0,42	79,67±0,42	98,64±0,65
	120	54,96±0,07	13,03±0,14	28,12±0,83	3,65±0,62	66,54±0,65	99,76±0,56

Fonte: Do autor.

Tabela 11 - Concentrações de celulose, hemiceluloses, lignina, cinzas I, rendimento e balanço de massa após pré-tratamento com ácido sulfúrico a 2,0 %.

Tempo (min)	Temp (°C)	Celulose (%)	Hemiceluloses (%)	Lignina (%)	Cinzas (%)	Rendimento (m/m)	Balanço Massa (%)
60	80	53,97±0,24	13,46±0,62	27,23±0,42	2,98±0,43	87,52±0,36	97,64±0,24
	100	51,96±0,23	14,62±0,42	27,32±0,65	4,21±0,23	80,47±0,52	98,11±0,67
	120	54,23±0,01	13,98±0,53	26,56±0,32	2,98±0,64	62,37±0,40	97,75±0,0,62
90	80	52,21±0,32	15,65±0,05	28,56±0,73	3,56±0,41	85,26±0,32	99,98±0,12
	100	51,32±0,65	16,45±0,61	28,56±0,62	4,09±0,67	86,06±0,93	100,4±0,10
	120	53,45±0,24	15,34±0,71	29,24±0,54	3,65±0,05	63,29±0,51	101,6±0,06
120	80	52,12±0,24	16,32±0,86	27,56±0,83	2,98±0,07	85,09±0,64	98,98±0,92
	100	52,64±0,91	14,98±0,45	27,62±0,03	2,78±0,02	76,43±0,06	98,02±0,42
	120	53,14±0,36	16,32±0,32	28,32±0,06	3,21±0,04	64,70±0,51	100,9±0,64

Fonte: Do autor.

A cada 100 g de bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado, as concentrações precisam ser corrigidas levando-se em conta o rendimento mássico. Para a condição de 1% (m/v) de ácido sulfúrico diluído o rendimento foi de 69,23 %. Sendo assim, encontrou-se 40,28 % de celulose, 6,41 % de hemiceluloses e 20,16 % de lignina.

Para a condição de 1,5% (m/v) de ácido sulfúrico diluído o rendimento foi de 69,02 %. Sendo assim, encontrou-se 39,56 % de celulose, 8,27 % de hemiceluloses e 19,07 % de lignina. Já Para a condição de 2,0 % (m/v) de ácido sulfúrico diluído o rendimento foi de 62,37 %. Sendo assim, encontrou-se 33,82 % de celulose, 8,72 % de hemiceluloses e 16,56 % de lignina.

Silva 2009, pré-tratou a palha de cana-de-açúcar com H₂SO₄, 1 % m/v a 120 °C por 10 minutos, e obteve uma recuperação de sólidos de 56,8 %, que está relativamente próximo ao valor encontrado no desenvolvimento desta pesquisa. Resultados mostraram uma concentração de 29,5 ± 0,2 % de celulose em função da quantidade de sólidos recuperados, 9,7 ± 0,3 % de hemicelulose e 16,5 ± 0,2 de lignina.

Rezende et al., (2011), ao pré-tratamento o bagaço de cana-de-açúcar utilizando H₂SO₄ (1 % v/v em água) por 40 min e a 120 °C, numa proporção de 1:10 sólido para líquido (gramas de bagaço/mL de solução), obtiveram valores de conversão para celulose de 45,45 %, para hemicelulose de 68,16 % e para lignina de 32,88 %. A diferença existente entre os valores encontrados pelos autores e os apresentados neste trabalho, pode ser devido ao fato de

que o tempo de retenção e a proporção de sólidos para líquido são inferiores as utilizadas neste trabalho.

Com o estudo apresentado, pode-se observar que a mistura bagaço mais palha de cana-de-açúcar in natura cotinha teor de celulose de 37,47%, hemiceluloses de 26,96% e lignina 22,93, após o pré-tratamento houve uma alteração nas porcentagem, o pré-tratamento com 1% de ácido sulfúrico encontrou teor de celulose, hemiceluloses e lignina de 42,15; 6,41 e 20,16% respectivamente para cada 100 g de mistura. Para as condições de 1,5% encontrou-se 39,59 % para celulose, 8,27% para hemicelulose e 20,16% para lignina, para a condição de 2,0 % encontrou-se encontrou 33,82 % para celulose, 8,72% para hemicelulose e 16,56% para lignina. O maior teor de celulose obtido foi nas condições de 1% (m/v), chegando a 42,15% para a condição de 1,5 e 2 % (m/v) o teor de celulose foi de 39,56 e 33,82 respectivamente ficando próximo ao encontrado no material in natura.

Com tudo, no desenvolvimento desta pesquisa a fração sólida obtida é rica em celulose, sendo assim essa matéria-prima é suscetível de ser submetida ao ataque enzimático objetivando a hidrólise da celulose, para posteriormente produzir etanol de segunda geração.

6 CONCLUSÃO

O etanol de segunda geração aparece como uma alternativa promissora para o aumento da produção do etanol de primeira geração, uma vez que sua matéria de fabricação são resíduos agroindustriais. A etapa de pré-tratamento ainda não se encontra consolidada e ainda é um desafio, por requerer um rompimento da parede celular e preservação da celulose aliada a baixa demanda energética.

Observando as Figuras 7 e 8, e levando em conta unicamente o fator de severidade pode concluir que o tempo não influenciou o processo do pré-tratamento, ao contrário da temperatura que teve um influencia significativa garantindo assim um alto FCS.

Finalmente, após a caracterização de cada uma das correntes obtidas após o pré-tratamento da mistura em suas diferentes condições via HPLC, pode-se avaliar o pré-tratamento em termos da conversão dos principais polímeros da biomassa (celulose, hemiceluloses e lignina).

Mas para todas as condições de pré-tratamento apresentadas nas Tabelas 6, 7 e 8 pode-se observar um queda na porcentagem da hemiceluloses com isso um aumento na porcentagem de celulose, isso se dá pelo rompimento da hemiceluloses. Os resultados encontrados nesse estudo estão condizentes com os encontrados na literatura.

As mistura palha e bagaço de cana-de-açúcar, quanto a sua composição após o pré-tratamento, apresentou elevados índices de celulose, componente expressivo para a produção de etanol de segunda geração, além de apresentar menores teores de hemicelulose e lignina em relação a outros processos destinados a produção de etanol lignocelulósico.

REFERÊNCIAS

- BALAT, M.; BALAT, H.; CAHIDE, O. Progress in bioethanol processing. *Progress in energy and combustion science*, v.34, p.551- 573, 2008.
- BEGUIN, P., AUBERT, J. P. The biological degradation of cellulose. *FEMS Microbiol. Rev.*,13:25-58, 1994.
- BERTONCINI, E. I. In: Workshop: ASPECTOS AMBIENTAIS DA CADEIA DO ETANOL DE CANA-DE-AÇÚCAR. Painele IV: Geração de Resíduos da Indústria da Cana-de-açúcar, 2008. Disponível em: <<http://www.apta.sp.gov.br/cana>>. Acesso em; 17. Ago. 2008.
- BIANCHI, MARIA LUCIA. *Polpação de palha de milho utilizando-se diferentes processos organosolv*.1995. Dissertação (Mestrado em Química) Campinas: Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, 1995.
- BIOETANOL de cana, 2008. Disponível em:< <http://www.bioetanoldecana.org>>. Acesso em:12. dez.2016.
- BNDES. Banco Nacional para o Desenvolvimento Social e Econômico: CGEE Centro de Gestão e Estudos Estratégicos. Bioetanol de cana-de-açúcar: energia para o desenvolvimento sustentável. BNDES e CGEE, Rio de Janeiro, 2008. 316p.
- CANILHA, L. et al. Sacarificação da biomassa lignocelulósica através de préhidrolise ácida seguida por hidrolise enzimática: uma estratégia de “desconstrução” da fibra vegetal. *Revista Analytica*, n. 44, p. 48-53, dez.. 2010.
- CGEE, CENTRO DE GESTAO E ESTUDOS ESTRATEGICOS. Bioetanol combustível: Uma oportunidade para o Brasil. Brasília- DF,.2009, 538 p.
- CHANG, V. S., NAGWANI, M., HOLTZAPPLE, M. T. Lime pretreatment of crop residues bagasse and wheat straw. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v.74, p.135–159, 1998.
- CHANG, V. S.; HOLTZAPPLE, M. T. Fundamental factors affecting enzymatic reactivity. *Applied Biochemistry Biotechnology*, p.5–37, 2000.
- CHATUVERDI, V.; VERMA, P. An overview of key pretreatment processes employed for bioconversion of lignocellulosic biomass into biofuels and value added products. *Biotech*, v. 3, n. 5, p. 415–431, 2013.
- CORTEZ, L.A.B. et al. Roadmap tecnológico para o etanol: componente termoconversão de biomassa. In: CORTEZ, L.A.B. *Bioetanol de Cana-de-Açúcar: P&D para a produtividade e sustentabilidade*. São Paulo: Blucher,2010. p. 919-936.
- DA SILVA, R., FRANCO, C. M. L., GOMES, E. Pectinases, hemicelulases e celulases, ação, produção e aplicação no processamento de alimentos: Revisão. *Boletim da SBCTA*, v. 31, n.2, p.249 –260, 1997.

FENGEL, D., WEGENER, G. *Wood chemistry, ultrastructure, reactions*. Berlin: Walter de Gruyter, 1989, 613p.

GIESE, E. C., PIEROZZI, M. DUSSÁN, K. J. CHANDEL, A. K. SILVA, S. S. Enzymatic saccharification of acid-alkali pretreated sugarcane bagasse using commercial enzyme preparations. *Journal Chemistry Technologic Biotechnol*, v. 88, p. 1266-1272, 2012.

GÓMEZ, E.O.; et al. 2010. A palha de cana-de-açúcar como matéria-prima para processos de segunda geração. In: Cortez (Ed.). *Bioetanol de cana-de-açúcar: PeD para produtividade sustentabilidade*. – São Paulo: Blucher, p. 637-659.

GOYAL, A.; GHOSH, B.; EVELEIGH, D. Characteristics of fungal cellulases. *Bioresource Technology*, v. 36, p. 37-50, 1991.

GRIMALDI, M.P. *Efeito dos pré-tratamentos químicos e físicos do bagaço de cana-de-açúcar na hidrólise enzimática*. 2013. 75f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia)-Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, UNICAMP, CAMPINAS, 2013.

HAHN-HÄGERDAL, B.; GALBE, M.; GORWA-GRAUSLUND, M. F.; LIDÉN, G.; ZACCHI, G. Bio-ethanol – the fuel of tomorrow from the residues of today. *Trends in Biotechnology*, v.24, 2006.

HAMELINCK, C. N.; HOOIJDONK, G. V.; FAAIJ, A. P. C. Ethanol from lignocellulosic biomass: techno-economic performance in short-, middle- and long-term. *Biomass and Bioenergy*, v. 28, p.384-410, 2005.

HEITZ, M.; et al. Fractionation of *Populus Tremuloides* at the Pilot Plant Level: Optimization of Pretreatment Conditions Via Steam Explosion Using the STAKE II Technology. In: *Canadian bioenergy R&D seminar*, 7., 1989.

HENDRIKS, A. T. W. M.; ZEEMAN, G. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, v.100, p.10–18, 2009.

HON, D. N. S., SHIRAISHI, N. *Wood and cellulosic chemistry*. New York: Marcel Dekker, inc.1991, 1032 p.

HSU, T. A., LADISCH, M. R., TSAO, G. T. Alcohol from cellulose. *Chemical Technology*, v. 10, n.5, p. 315–319, 1980.

KIM, S., HOLTZAPPLE, M. T. Lime pretreatment and enzymatic hydrolysis of corn stover. *Bioresource Technology*, v. 96, p. 1994-2006, 2005.

KHESHGI, H.S.; PRINCE, R.C.; MARLAND, G. The potential of biomass fuels in the context of global climate change: focus on transportation fuels. *Annu Rev Energy Environ*, v.25, p.199–244, 2000.

LEE, D., YU, A. H. C., WONG, K. K. Y., et al. Evaluation of the enzymatic susceptibility of cellulosic substrates using specific hydrolysis rates and enzyme adsorption. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v.45, n. 45, p.407–415, 1994.

LIMA, U. A.; et al. *Biotecnologia Industrial*. São Paulo: Edgard Blucher, , 2001, v.3.

- LOPES E.S. *Cinética, estudo e avaliação do processo de deslignificação do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado com ácido sulfúrico diluído*. São Carlos, 2015.135p. Dissertação (Mestrado –Engenharia Química),. Universidade Estadual de Campinas., 2015
- LYND, L. R., ELANDER, R. T., WYMAN, C. E. Likely features and costs of mature biomass ethanol technology. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 57, n.58, p.741–761, 1996.
- MARTÍN, C.; KLINKE, H. B.; THOMSEN, A. B. Wet oxidation as a pretreatment method for enhancing the enzymatic convertibility of sugarcane bagasse. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 40, p. 426-432, 2007.
- MOHAGHEGHI, A. et al. Cofermentation of glucose, xylose, and arabinose by genomic DNA–integrated xylose/ arabinose fermenting strain of *Zymomonas mobilis* AX101. *Applied Biochemistry Biotechnology*, v. 98, p. 885–889, 2002.
- MOHAN, D.; PITTMAN, C. U.; STEELE, P. H. Pyrolysis of wood/biomass for bio-oil: a critical review. *Energy and Fuels*, v. 20, p. 848-889, 2006.
- MORAIS, A. P. S. da. Estudo do pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar e caracterização físico-química. 2010. 47 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista Júlio Mesquita Filho, Botucatu, 2010.
- MOSIER, N. et al. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, v. 96, n. 6, p. 673–686, 2005.
- MOSIER, N. S., HENDRICKSON, R., WELCH, G., et al. *Corn fiber pretreatment scale-up and evaluation in an industrial corn to ethanol facility*. Paper 6A-04, 25th Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals, Breckenridge, CO, 2003.
- OLIVEIRA J. G. *Perspectivas para a co-geração com bagaço de cana-de-açúcar: potencial do mercado de carbono para o setor sucroalcooleiro paulista.*, 2007. 160 p. Dissertação (Mestrado –Engenharia de Produção), Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, USP São Carlos 2007.
- OLIVEIRA, L. M.; SERRA, J.C.V.; OLIVEIRA, K.B.M.; Balanços Energéticos da produção de etanol para diferentes matérias primas. *Geoambiente on line*, n.22, p. 39 – 52. 2014.
- OLSSON L.; HAHN-HAGERDAL B. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates for ethanol production. *Enzyme and Microbial technology*, v. 18, p. 312-331, 1996.
- OVEREND, R.P.; CHORNET, E. Fractionation of lignocellulosics by steam-aqueous pretreatments [and discussion]. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, v. 321, n. 1561, p. 523-536,1987
- PANDEY, A. et al. Biotechnological potential of agro-industrial residues: sugarcane bagasse. *Bioresource Technology*, v. 74, p. 69-80, 2000.

PATURAU, J. M. By-products of the cane sugar industry - an introduction to their industrial utilization. 3. ed. Amsterdam : Elsevier, 1989, 435p.

PITARELO, A.P. *Produção de etanol celulósico a partir do bagaço de cana pré-tratado por explosão a vapor*. 2013.162 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013

POLOBIO, 2009. Biocombustíveis. Disponível em:<
<http://www.polobio.esalq.usp.br/biocombustiveis.html>>.em :1º abr 2017

PUPPAN, D. Environmental evaluation of biofuels. *Periodica Polytechnica Ser Soc Man Sci* v.10, p.95-116, 2002.

RABELO, S. C. *Avaliação de desempenho do pré-tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino para a hidrólise enzimática de bagaço de cana-de-açúcar*. 2007. 180 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química)- Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Campina, 2007.

RABELO, S. C. Avaliação e Otimização de pré-tratamento e hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar para a Produção de Etanol de Segunda Geração 2010.447 f. Tese (Doutorado Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.

RAMOS, L. P. The chemistry involved in the steam treatment of lignocellulosic materials. *Química Nova*, v.26, p. 863-871, 2003.

Rezende, C. A., Lima, M. A., Maziero, P., Azevedo, E. R., Garcia, W., Polikarpov, I. Chemical and morphological characterization of sugarcane bagasse submitted to a delignification process for enhanced enzymatic digestibility. *Biotechnology for biofuels*, v. 4, n. 54, 2011.

ROCHA, G. J. M. et al. Steam explosion pretreatment reproduction and alkaline deslignification reactions performed on a pilot scale with sugarcane bagasse for bioethanol production. *Industrial. Crops and Products*, v. 35, p. 274-279, 2012.

SAHA, B. C. Hemicellulose bioconversion. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, v.30, p.279–291, 2003.

SANTOS, F.A et al. Potencial da palha de cana-de-açúcar para a produção de etanol. *Química Nova*. Minas Gerais, v. 35, n.5, p. 1004-1010, 2012.

SANTOS, F.; COLODETTE, J.; QUEIROZ, J. H. (Eds). Bioenergia e Biorrefinaria – cana-de-açúcar e espécies Florestais -. Viçosa: 2013.

SCHLITTLER, L. A. F. S. *Engenharia de um bioprocesso para a produção de etanol de cana-de-açúcar*. 2006. Dissertação (Mestrado em Química)-Escola de Química, Universidade Federal do Rio Janeiro, 2006.

SEABRA, J. E. A. *Análise de opções tecnológicas para uso integral da biomassa no setor de cana-de-açúcar e suas implicações*. 2008. 298p. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica) - Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Campinas, 2008.

SEDELIUS, J. Steam pretreatment optimization for sugarcane bagasse in bioethanol production. 2005. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Departamento de Engenharia Química, Universidade de Lund, Suécia, 2005.

SUN, Y., CHENG, J. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource Technology*, v.83, p.1–11, 2002.

UNICA – UNIÃO DA INDÚSTRIA CANAVIEIRA. Disponível em: <<http://ww.unica.com.br/>>. Acesso em: 15 abr. 2016.

WYMAN, C. E. Ethanol from lignocellulosic biomass: technology, economics, and opportunities. *Bioresource Technology*, v. 50, p.3-16, 1994.

WYMAN, C.E.; BRETHAUER, S. Review: Continuous hydrolysis and fermentation for cellulosic ethanol production. *Bioresource Technology*, United States, v. 101, n.13, p.4862-4874, 2009.

YU, Y.; LOU, X.; WU, H. Some Recent Advances in Hydrolysis of Biomass in Hot-Compressed Water and Its Comparisons with Other Hydrolysis Methods. *Energy & Fuels*, v.22, p.46–60, 2008.

ZHANG, L.et.,al. Application of simultaneous saccharification and fermentation (SSF) from viscosity reducing of raw sweet potato for bioethanol production at laboratory, pilot and industrial scales. *Bioresource Technology*, n. 102, p. 4573-4579, 2011.

ZHANG, P.,et.,al Starch saccharification and fermentation of uncooked sweet potato roots for fuel ethanol production. *Bioresource Technology*, n. 128, p. 835-838, 2013.